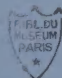
ISSN 0181-1568

CRYPTOGAMIE

ALGOLOGIE

TOME 9 Fascicule 1 1988

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS



PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Février 198

MANUSCRITS

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le premier fascicule de chaque tome. Les auteurs sont priés d'adresser leurs manuscrits (en trois exemplaires) au Directeur-Rédacteur de *Cryptogamie, Algologie*, Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris.

Les tirages à part et les illustrations sont à la charge des auteurs.

ABONNEMENTS A CRYPTOGAMIE
Tome 9, 1988

CRYPTOGAMIE comprend trois sections : ALGOLOGIE, BRYOLOGIE-LICHÉNOLOGIE, MYCOLOGIE.

Abonnement à 1 section :

France	(HT 305 F)	317,20 F
Étranger	HT	335,00 F

Abonnement aux 3 sections :

France	(HT 870 F)	904,80 F
Étranger	HT	950,00 F

Prière de bien vouloir envoyer le montant par chèque bancaire ou par chèque postal libellé à l'ordre de : CRYPTOGAMIE, Algologie, et adressé à :

CRYPTOGAMIE, Algologie
Laboratoire de Cryptogamie
12, rue Buffon, 75005 Paris
C.C.P. : Paris 14 522 31 T

Cryptogamie, Algologie est indexé par *Aquatic Sciences Fisheries Abstracts Part 1, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Current Contents, Marine Science Contents Tables (F.A.O.)*, Publications bibliographiques du CDST (Pascal).

CRYPTOGAMIE
ALGOLOGIE

TOME 9 Fascicule 1 1988

Anciennement REVUE ALGOLOGIQUE
Fondée en 1922 par P. ALLORGE et G. HAMEL
Directeur-Rédacteur : P. BOURRELLY
Éditeur : A.D.A.C.

SOMMAIRE

Ouvrage publié avec le concours du Muséum National d'Histoire Naturelle



CRYPTOGAMIE, ALGOLOGIE

Tome 9 Fascicule 1 1988

CONTENTS

CAPSOSIRA BRASILIENSIS, A NEW SPECIES OF CAPSOSIRACEAE (CYANOPHYCEAE) FROM SOUTHEASTERN BRAZIL

C.L. SANT'ANNA* and S.M.F. SILVA*

ABSTRACT. — A new species of *Capsosira* Kützing (Cyanophyceae), namely *C. brasiliensis* Sant'Anna et F. Silva sp. nov., is described on morphological grounds from material collected from São Paulo State, Brazil. The alga was found as an epiphyte on *Stigonema robustum* Gardner and on *Batrachospermum* sp. plants growing on submerged rocks in clean, running, freshwater.

RÉSUMÉ. — Une nouvelle espèce de *Capsosira* Kützing (Cyanophyceae), nommée *C. brasiliensis* Sant'Anna et F. Silva sp. nov., a été décrite de l'État de São Paulo, Brésil. Cette algue d'eau douce est fixée sur *Stigonema robustum* Gardner et *Batrachospermum* sp. qui croissent sur les pierres dans les eaux propres et courantes.

KEY WORDS : *Capsosira, C. brasiliensis* sp. nov., Cyanophyceae, Brazil.

During the course of an investigation of the Cyanophyceae of the State of São Paulo , two extremely homogeneous populations of an epiphytic blue-green alga were found. This material forms cushion-like thalli around the host, with the lower surface pseudoparenchymatous, erect filaments with dichotomous and subdichotomous divergent branches, heterocysts which are generally intercalary, and reproduction by hormogonia or sometimes by terminal gonidia, a group of morphological features shared by none of the 4 species already described for the genus.

Populations studied were found on *Stigonema robustum* Gardner and *Batrachospermum* sp. growing on rocks submerged in rivers.

Capsosira brasiliensis sp. nov. (Fig. 1-8)

Thallus gelatinosus, pulvinatus, sphaericus vel subsphaericus brunneus, ad substratum affixus, 0,4-1,3 mm diametro; pars prostrata a filamentis irregularibus, incoloribus, lignos-brunneisve formata; pars erecta a ramis divergentibus filamentorum rigidorum plerumque unseriatorum formata, 9,6-17,1(-20) µm

* Instituto de Botânica, Seção de Ficologia, Caixa Postal 4005, 01000-São Paulo, SP - Brazil.

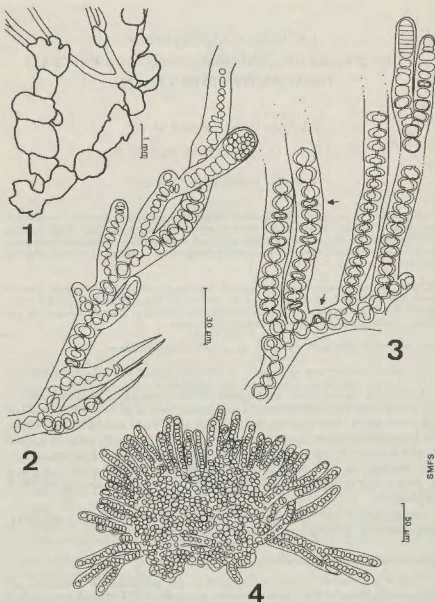


Fig. 1-4 : *Capsosira brasiliensis* sp. nov. — 1 : Habit of thallus. 2 : Adult filament showing terminal gonidia. 3 : Filaments with lateral and intercalary heterocysts. 4 : Prostrate and erect portions of thallus.

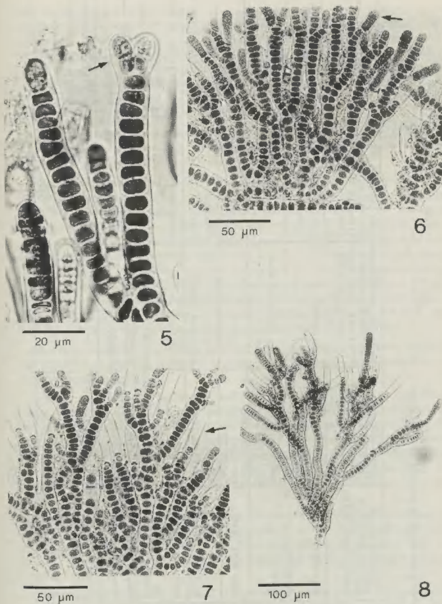


Fig. 5-8 : *Capsosira brasiliensis* sp. nov. — 5 : Young filaments showing beginning of branch formation. 6 : filaments with terminal hormogones. 7 : Empty sheaths after hormogone liberation. 8 : General aspect of plant showing divergent branching.

TABLE 1 - COMPARISON BETWEEN SPECIES OF *CAPSOSIRA*

Characters	*Capsosira viride* (Frémy) Bourrelly (=*Stauromatonema viride* Frémy, 1930)	*Capsosira nigra* (Frémy) Bourrelly (=*St. nigrum* Frémy, 1930)	*Capsosira minutissima* (Geitler & Ruttner) Bourrelly (=*St. minutissimum* Geitler & Ruttner, 1935)	*Capsosira brebissonnii* Kützing ex Bornet & Flahault (cf. Frémy, 1930)	*Capsosira brasiliensis* sp. nov.
Thallus	crustaceous; gelatinous; green	crustaceous; firm; black	crustaceous - clear green to dark brown	cushion-like, subspherical; gelatinous; -	cushion-like, spherical to subspherical; gelatinous; dark brown
Branches	few, divergent	parallel	-	closed	divergent
Filaments	rigid 10,0-20,0µm broad	rigid 6,5-8,0µm broad	- 3,0-4,0µm broad	flexuous 7,5µm broad	rigid 9,6-17,1(-20,0)µm broad
Vegetative cells	subquadratic; broader than long; 6,0-8,5µm broad	subquadratic; broader than long; 3,5-5,0µm broad	quadratic; broader than long; (2,0-)2,5-3,0µm broad	subspherical; - 4,0-5,0µm broad	subspherical, ellipsoidal to quadratic broader than long; 3,4-9,6µm broad
Heterocysts	abundant	rare	absent	frequent	frequent
Reproduction	discoid planococcus 6,0-8,0µm broad	discoid planococcus 3,0µm broad	- -	terminal hormogones formed by 10-20 cells	terminal hormogones formed by 2-12 cells; seldom terminal clavate gonidia

lata; vagina incolor ligneo-brunnaceave, homogenea, ad apicem lamellis rariter divergentes; trichoma strictum, 3,4-9,6 µm latum; cellulae subsphaericae, ellipsoideae vel quadratae, 1,5-7,5 µm longae, contentu aeruginoso, foveae connectionibus conspicuis; heterocystae intercalares, ellipsoideae, incolores vel flavidae, 2,8-3,4 µm longae, 5,8-6,8 µm latae, rariter laterales; reproductio a hormogoniis terminalibus, nonnumquam strictis, e cellulis 2-12 compositis, contentu aeruginoso, 9,6-35,5 µm longis, 4,0-8,4 µm latis; gonidia clavata, rariter terminalia, 13,4 µm lata.

Typus-Holotypus : Rivus Claro, municipium Biritiba Mirim, provincia Sanctus Paulus, Brasilia, collectus a O. Necchi Jr., 6.IV.1984 et in Herbario Instituti Botanici positus, Sancto Paulo, Brasilia (SP187181).

Thallus gelatinous, cushion-like, spherical to subspherical, dark brown, attached to the substrate, 0,4-1,3 mm diam.; prostrate portion formed by irregular, colourless to yellowish brown filaments; erect portion formed by divergent branches with rigid and generally uniseriate filaments, 9,6-17,1 (-20) µm broad; sheath colourless to yellowish brown, homogeneous, lamellations at apex seldom divergent; trichome constricted, 3,4-9,6 µm broad; cells subspherical, ellipsoidal to quadratic, 1,5-7,5 µm long, contents blue-green, pit connections conspicuous; heterocysts intercalary, ellipsoidal, colourless to yellowish coloured, 2,8-3,4 µm long, 5,8-6,8 µm broad, seldom lateral; reproduction by terminal hormogones, constricted or not, formed by 2-12 cells, contents blue-green, 9,6-35,6 µm long, 4,0-8,4 µm broad; gonidia seldom terminal, clavate, 13,4 µm broad.

Material examined was found epiphytic on *Stigonema robustum* Gardner (SP187252) and *Batrachospermum* sp. (SP187181) growing on submerged rocks in clean running waters.

Initially the thallus of *Capsosira brasiliensis* is subspherical; later it completely wraps around the filaments of the host (Fig. 1). The erect filaments are divergent and generally uniseriate, but sometimes the cells divide perpendicularly to the regular axis of division (Fig. 6-7). In the young filaments, the cells are quadratic (Fig. 5), becoming ellipsoidal to subspherical with aging (Fig. 2). Although the heterocysts are generally intercalary, some lateral ones may occur (Fig. 3). Hormogones are abundant and always terminal (Fig. 6); there also are very rare terminal gonidia (Fig. 2).

This alga differs from all other known species of the genus *Capsosira* Kützing in having a cushion-like spherical to subspherical thallus (Fig. 1), an erect portion formed by dichotomous to subdichotomous, divergent branches (Fig. 8), filament greater in diameter, and reproduction by terminal hormogones and gonidia.

According to Bourrelly (1970), the genus *Stauromatonema* Frémy should be considered identical to *Capsosira*, which would thus include four species (Table 1).

Capsosira brasiliensis is related to *C. brebissonii* Kützing ex Bornet et Flahault and *C. viride* (Frémy) Bourrelly. From the former it differs by rigid and divergent branches, filaments of greater diameter, and reproduction by gonidia

as well as by hormogones. From the latter, it differs in its cushion-like thallus and reproduction by hormogones.

The Brazilian material has some characteristics typical for *Capsosira* (thallus type, intercalary and lateral heterocysts and hormogone formation) and others of *Stauromatonema* (rigid filaments and divergent branches). This situation supports Bourrelly's proposition to include *Stauromatonema* in *Capsosira*, but the genus description should then be amplified in the following characters : - erect filaments sometimes biseriate; - reproduction seldomly by terminal gonidia.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to Dr. Carlos E.M. Bicudo for critical reading of the manuscript, to Mr. Alasdair G. Burman for improving the English text and Latin diagnose and to Mr. Orlando Necchi Jr. for collecting the material. We are also indebted to FATESP for the financial support (Grant nr. 84/1194-9).

REFERENCES

BOURRELLY P., 1970 — *Les algues d'eau douce : initiation à la systématique, 3 : les algues bleues et rouges, les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines.* Paris, Boubée & Cie, 512 p.

BOURRELLY P., 1984 — Algues d'eau douce de la Nouvelle Calédonie recueillies par la Mission F. Starmühlner en 1965 (Diatomées exclues), 1. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 17 (1) : 13-51.

FRÉMY P., 1930 — Les Myxophycées de l'Afrique équatoriale française. *Arch. Bot. Mém.* 3 (2) : 1-507.

GEITLER L. & RUTTNER F., 1935 — Die Cyanophyceen der Deutschen limnologischen Sunda-Expedition, ihre Morphologie, Systematik und Ökologie. *Arch. Hydrobiol.* 14 : 308-489.

NOTA SOBRE ALGUNOS *CHARACIOPSIS* (XANTHOPHYCEAE) DE LA ARGENTINA

Haydée PIZARRO* y Guillermo TELL**

RÉSUMÉ. — Huit taxons de *Characiopsis* Borzi, provenant de la région subtropicale de l'Argentine sont présentés ici. Parmi ceux-ci, il faut noter cinq nouvelles variétés, à savoir : *Characiopsis aquilonaris* var. *chompi*, *Ch. armata* var. *claricis*, *Ch. columnaris* var. *pusilla*, *Ch. longipes* var. *minor*, *Ch. spinifer* var. *correntinensis*; les trois autres espèces sont nouvelles pour l'hémisphère sud.

ABSTRACT. — This paper deals with some *Characiopsis* Borzi from subtropical Argentina. Eight taxa are discussed, of which *Ch. aquilonaris* var. *chompi*, *Ch. armata* var. *claricis*, *Ch. columnaris* var. *pusilla*, *Ch. longipes* var. *minor*, *Ch. spinifer* var. *correntinensis* are new varieties. The remaining three species are new records for south hemisphere.

MOTS CLÉS : Xanthophyceae, *Characiopsis*, systématique, Argentine.

INTRODUCCION

En un trabajo anterior (Tell & Pizarro, 1984) hemos presentado los resultados obtenidos al estudiar la ficoflora epífita sobre *Azolla caroliniana* Willd. Al revisar nuevos materiales hallamos algunos *Characiopsis* Borzi (Xanthophyceae) que resultaron ser nuevos para la ciencia, mientras que otros sólo han sido rara vez mencionados en la bibliografía. Entre las novedades citamos : *Ch. aquilonaris* Skuja var. *chompi* var. nov., *Ch. armata* Ettl var. *claricis* var. nov., *Ch. columnaris* Pascher var. *pusilla* var. nov., *Ch. longipes* (Rabenh.) Borzi var. *minor* var. nov., *Ch. spinifer* Printz var. *correntinensis* var. nov.; mientras que de *Ch. anabaenae* Pascher var. *anabaenae*, *Ch. malleus* Pascher, y *Ch. minima* Pascher, ampliamos su distribución al hemisferio sur, ya que sólo eran conocidas para Europa.

* CECOAL, C. C. 291, 3400 Corrientes, Argentina.

** Dpto Cs. Biológicas, Fac. Cs. Exactas y Naturales, 1428 Buenos Aires, Argentina.

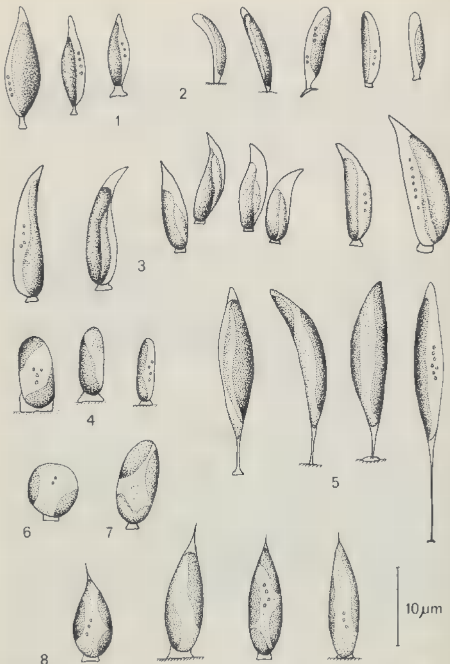


Fig. 1. *Characiopsis anabaenae* Pascher var. *anabaenae*. 2. *Ch. aquilonaris* Skuja var. *chompi* var. nov. 3. *Ch. armata* Ettl var. *claricis* var. nov. 4. *Ch. columnaris* Pascher var. *pusilla* var. nov. 5. *Ch. longipes* (Rabenh.) Borzi var. *minor* var. nov. 6. *Ch. malleus* Pascher. 7. *Ch. minima* Pascher. 8. *Ch. spinifer* Printz var. *correntinensis* var. nov.

MATERIAL Y METODOS

Los materiales provienen de plantas de *Azolla caroliniana* y *Salvinia* sp. colectadas en distintos cuerpos de agua leníticos, próximos a la ciudad de Corrientes. Porciones vivas de partes sumergidas de distintas plantas, fueron observadas entre cubre y portaobjetos directamente con objetivo de inmersión. En todos los casos se agregaron unas gotas de solución de lugol (I + IK).

Luego de su estudio, los materiales analizados se conservaron en formol al 4 % y se depositaron en el Centro de Ecología Aplicada del Litoral.

RESULTADOS

Todas las entidades que se describirán a continuación, arrojaron resultado negativo para la prueba de presencia de almidón con solución de lugol.

Characiopsis anabaenae Pascher var. ***anabaenae*** (Fig. 1)

Nuestros ejemplares son muy semejantes a los señalados por Ettl (1978) aunque parecerían ser ligeramente más puntiagudos. El cromoplasto es único y las gotas de aceite son frecuentes. Ettl (*op. cit.*) describió una nueva variedad, *Ch. anabaenae* var. *maior* (18-20 μm long., 5 μm diám.); por sus medidas los ejemplares que nosotros hallamos coinciden con la var. *anabaenae*, 8,5-15 μm (10-13 μm)[1] long., 3-4 μm (4 μm) diám.

La especie se conoce en Europa, extendiéndose con esta cita a América del Sur. Generalmente se la halló distintas especies de *Anabaena* sp.; nosotros la hallamos sobre *Salvinia* sp.

Characiopsis aquilonaris Skuja var. ***chompi*** var. nov. (Fig. 2)

A typo differt apice cellulae rotundata. Cellulae long. : 8-10 μm, diam. 1,5-3 μm.

Iconotypus : figura nostra 2. In regionis Corrientes, Argentina.

Si bien morfológica y estructuralmente nuestros ejemplares coinciden con *Ch. aquilonaris* Skuja, difieren de la especie por tener los ápices redondeados, con uno de los lados ligeramente más convexo que el otro. Cromatóforo único, laminar, parietal. Dimensiones celulares : 8-10 μm long., 1,5-3 μm diám.

Epífito sobre *Azolla caroliniana*.

Chariopsis armata Ettl var. ***claricis*** var. nov. (Fig. 3)

Varietas ab typo differt longitudine majore, cellula ad basin plus rotundata, ac chromatophoro singulare parietale non spirae formante. Cellulae long. : 9-20 μm, 2-4 diam.

Iconotypus : figura nostra 3. In regionis Corrientes, Argentina.

En un trabajo reciente (Tell & Velez, 1985) hemos descripto una nueva variedad de *Ch. armata*, la var. *sociabilis*, que la diferenciamos de la especie por

1. Los valores entre parentesis corresponden a los dados por Ettl (1978).

tener las células de tamaño mayor, ensanchadas en su base y una forma a veces sigmoidea; además, el cromatóforo se presentaba espiralado. La nueva variedad que proponemos se diferencia de la especie por tener también, sus bases ensanchadas al igual que la var. *sociabilis*, pero el cromatóforo no es espiralado, si no en lámina parietal como en la especie. Por otra parte, sus células son también de mayor tamaño que en la var. *armata*, pero siempre rectas y no sigmoideas como algunos ejemplares de la var. *sociabilis*. Dimensiones celulares : 9-20 µm long., 2-4 µm diám.

Sobre *Salvinia* sp., solitarias o agrupadas en manchones.

Characiopsis columnaris Pascher var. ***pusilla*** var. nov. (Fig. 4)

A typo differt dimensione nimis minore. Cellulae long. : 8-10 µm, 2-4 µm diam.

Iconotypus : figura nostra 4. In regionis Corrientes, Argentina.

Nuestros ejemplares, que por su tamaño se acercarían a *Ch. obovoidea* Pascher, por su forma netamente cilíndrica y su parte basal ampliamente redondeada se aproximan a *Ch. columnaris* Pascher, de los que difiere por el tamaño marcadamente menor.

Epífito sobre *Azolla caroliniana*.

Characiopsis longipes (Rabenh.) Borzi var. ***minor*** var. nov. (Fig. 5)

A typo cellularum minoribus dimensionibus differt. Cellulae long. : 18-27 µm, 3-4,5 µm diam.

Iconotypus : figura nostra 5. In regionis Corrientes, Argentina.

Esta nueva variedad difiere de la especie no sólo por sus dimensiones menores, si no también por la menor relación de tamaño entre el pie y el cuerpo celular. Esta relación, en *Ch. longipes* var. *longipes* es aproximadamente 1 : 1, mientras que en la var. *minor* el pie es 1:3-1:2 del cuerpo celular. Cromatóforos 1-2. Dimensiones celulares : 18-27 µm long., 3-4,5 µm diám.

Epífito sobre *Salvinia* sp.

Characiopsis malleus Pascher (Fig. 6)

Nuestros ejemplares son algo más esféricos y de menor tamaño que los señalados por Ettl (1978), y poseen siempre dos cromoplastos parietales. Dimensiones celulares : 7 µm (10-12 µm) long., 6,5 µm (8 µm) diám.

La especie sólo se conocía para Checoslovaquia, donde siempre fue hallada epífita sobre algas (*Oedogonium* sp., *Bulbochaete* sp. y *Schizochlamys* sp.). Nuestros ejemplares, en cambio, los encontramos sobre una planta de mayor porte, *Azolla caroliniana*.

Characiopsis minima Pascher (Fig. 7)

Esta especie es fuertemente polimórfica; sus células pueden ser desde elipsoidales hasta obovoideas, piriformes o en forma de raqueta. Cromatóforos 1-2. Pie corto y grueso. Dimensiones celulares : 11 µm (5-8 µm) long., 5 µm (3-5 µm)

diám. Nuestros ejemplares son de longitud mayor que los señalados por Ettl (1978).

Conocido para Europa. Epífito sobre *Salvinia* sp.

Characiopsis spinifer Printz var. ***correntinensis*** var. nov. (Fig. 8)

A typo differt magnitudine nimis minore. Cellulae long. : 11-15 µm, 2-4 µm diam.

Iconotypus : figura nostra 8. In regionis Corrientes, Argentina.

Morfológicamente, algunos de nuestros ejemplares coinciden notoriamente con los ilustrados por Ettl (fig. 472 b, 1978), de los que difiere por sus dimensiones menores. Dimensiones celulares : 11-15 µm long., 2-4 µm diám.

Epífito sobre *Azolla caroliniana.*

AGRADECIMIENTOS : Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la Prof. María L. Acuña por la traducción de las diagnosis latinas.

BIBLIOGRAFIA

ETTL H., 1978 — *Xanthophyceae. In Süsswasserflora von Mitteleuropa.* Bd. 3, 1 Teil, Stuttgart, New York, G. Fischer, 530 p.

TELL G. & PIZARRO H., 1984 — Tribophyceae asociadas a raíces de *Azolla caroliniana* Willd.de la provincia de Corrientes (Argentina). *Cryptogamie, Algol.* 4 (3-4) : 171-188.

TELL G. & VELEZ C., 1985 — Algas de agua dulce nuevas o interesantes para el Hemisferio Sur. *Cryptogamie, Algol.* 6 (2) : 133-139.

ÉTUDE EN MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE A BALAYAGE DE QUELQUES DESMIDIACÉES (CHLOROPHYTA, ZYGOPHYCEAE) DES LACS ANDINS BOLIVIENS

Alain COUTÉ* et André ILTIS**

RÉSUMÉ.— Les auteurs étudient, à l'aide du M.E.B., sept taxons appartenant à la famille des Desmidiacées, récoltés dans les Andes boliviennes. Trente deux documents photographiques originaux présentent des vues d'ensemble ou de détails, en particulier d'une espèce nouvelle du genre *Cosmarium* et de deux variétés nouvelles des genres *Staurastrum* et *Euastrum*.

ABSTRACT. — The authors study with the help of scanning electron microscopy seven taxa belonging to the Desmidiaceae family, sampled in Bolivian Andes. Thirty two original micrographs give views of entire cells and of details peculiarly of one new species of the genus *Cosmarium* and of two new varieties of the genus *Staurastrum* and *Euastrum*.

RESUMEN. — Los autores estudian, con la ayuda del M.E.B., siete taxones pertenecientes a la familia de los Desmidiacees, recolectados dentro de los Andes Bolivianos. Treinta y dos documentos fotograficos originales presentan la vista general o de detalles en particular de una especie nueva del genero *Cosmarium* y de dos variedades nuevas de los generos *Staurastrum* y *Euastrum*.

MOTS CLÉS : Algues, Desmidiaceae, eau douce, Andes, Bolivie, ultrastructure.

INTRODUCTION

Les algues, objets de cette étude, ont été récoltées en novembre 1982 dans cinq lacs de montagne de la vallée d'Ichu Khota. Celle-ci est située dans la cordillère orientale des Andes (16°10' de latitude; 68°22' de longitude), à environ 70 km au nord-ouest de La Paz.

Les cinq lacs inventoriés s'étagent à des altitudes allant de 4300 à 4850 mètres. Le premier, Khara Khota, est localisé à 4300 mètres; le second, Khotia,

* Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire naturelle, 12 rue Buffon, 75231 Paris-Cedex, U.A. n° 257 (C.N.R.S.).

** O.R.S.T.O.M., 218 rue Lafayette, 75480 Paris Cedex 10.

est à 4450 mètres; le troisième, Jankho Khota, à 4690 mètres, tandis que le quatrième est constitué par une petite nappe d'eau peu profonde sise à 4820 mètres, directement à l'aval d'un glacier. Le cinquième lac, Laguna Negra, aux eaux noires, est situé à 4850 mètres de l'autre côté du col qui ferme la vallée.

Les caractéristiques physico-chimiques de ces milieux ainsi que la flore diatomique du sédiment ont été étudiées brièvement par Servant-Vildary (1982). Par ailleurs, un premier inventaire de la flore algale de ces lacs a été dressé par Iltis (1984).

Ce travail de recherche sur les algues dulçaquicole a été effectué dans le cadre d'une convention passée entre l'Universidad Mayor de San Andrès (U.M.S.A.) de La Paz et l'O.R.S.T.O.M. Paris pout l'étude géodynamique et limnologique des bassins des hauts plateaux des Andes boliviennes.

MÉTHODOLOGIE

Les échantillons ont été récoltés depuis la berge à l'aide d'un filet à plancton de 40 µm de vide de maille, puis fixés avec du formaldéhyde du commerce à 10 % environ. Les cellules ont été isolées à la micropipette puis déshydratées selon la technique du point critique avec l'acide carbonique liquide comme dernier milieu. Elles ont ensuite été montées sur le porte-objet avec de l'adhésif double face et métallisées à l'or et au palladium. Les observations et les photographies ont été faites sur le microscope électronique à balayage Cambridge 600 du Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire naturelle.

L'ensemble des documents photographiques, regroupés en quatre planches, donne des vues d'ensemble et de détails de plusieurs taxons appartenant à quatre genres de Desmidiacées.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Euastrum pseudotuddalense Messikommer var. ***perforatum*** var. nov. (pl. 2, fig. 6 à 8 et pl. 5, fig. 1 à 3).

Cellules de 32 à 36 µm de longueur sur 24 à 28 µm de largeur; épaisseur : 17-18 µm; isthme : 10-12 µm.

Cette nouvelle variété se distingue du type de l'espèce par la fente apicale plus étroite, la perforation (diamètre : 2µm) au centre de la tumeur médiane et ses dimensions plus grandes. Par contre, l'ornementation des lobes latéraux (pl. 2, fig. 6 et 7) et apicaux (pl. 2, fig. 8) rappellent bien celle représentée par Messikommer (1942), et les contours cellulaires sont bien similaires.

L'étude au M.E.B. de la paroi de cette nouvelle variété montre que la majeure partie de la surface cellulaire est finement scrobiculée (pl. 2, fig. 6). Ce caractère n'est pas mentionné par Messikommer dans la description de l'espèce.

Ce taxon signalé et représenté par Iltis (1984), sous l'appellation de *E.* cf. *subalpinum* var. *crassum* Messikommer est assez proche, en effet, de *E. subalpinum* var. *crassum* Messikommer (1942), mais ce dernier s'en distingue par sa fente apicale presque inexistante, l'aspect de la tumeur centrale et le rapport longueur/largeur. Il est assez voisin aussi d'*E. valdajense* var. *ornatum* Krieger et Bourrelly (1956) mais ce dernier en diffère, selon les auteurs, par l'incision très ouverte du lobe polaire et la tumeur centrale lisse.

Origine de l'échantillon : Laguna Negra.

Diagnose latine :

Haec varietas apicis incisura angustiore, perforatione in medio tumoris mediano et dimensionibus majoribus a typo speciei differt. Cellulae longitudo : 32-36 µm; latitudo : 24-28 µm; isthmi latitudo : 10-12 µm.

In laguna Negra lacu (Ichu Khota valle), Bolivia (18-12-1982).

Iconotypus : pl. 5, fig. 1, 2 et 3.

Cosmarium andinum sp. nov. (pl. 1, fig. 1 à 6 et pl. 5, fig. 4 et 5).

Cellules de 45 à 58 µm de longueur sur 26 à 36 µm de largeur; isthme : 19 à 28 µm. Un plaste lobé par hémisomate avec un pyrénoïde central.

Notre nouvelle espèce se distingue de tous les autres *Cosmarium* de section circulaire par la constriction bien marquée de la cellule dans le tiers supérieur de chaque hémisomate (pl. 1, fig. 1, 3 et 5). A ce niveau, le diamètre cellulaire est égal à celui de l'isthme.

Par ailleurs, l'ornementation de la paroi dans la région médiane de l'hémisomate ainsi qu'à l'apex est faite de séries de verrues plus ou moins fusionnées (pl. 1, fig. 3) disposées parallèlement à l'axe de la cellule. Dans la zone apicale, on peut dénombrer 15 à 16 séries complètes (pl. 1, fig. 3, 5 et 6) à disposition rayonnante. On en compte 28 à 32 dans la région médiane (pl. 1, fig. 5 et 6). Ce type de relief pariétal rappelle plus ou moins, pour les *Cosmarium* à section circulaire, celui de *C. elegantissimum* Lundell (1871) chez lequel, pourtant, les verrues semblent bien indépendantes les unes des autres et jamais fusionnées. Par contre, pour les *Cosmarium* à section ellipsoïdale, cette ornementation est fort semblable à celle que l'on observe dans la région médiane de l'hémisomate chez *C. quadrifarium* Lundell, par exemple.

Dans les autres régions de la cellule, la paroi est lisse.

Cette nouvelle espèce, par son contour et la localisation de ses ornementations, se rapproche un peu de *Cosmarium trifasciatum* Nordstedt et Wittrock (1876, Pl. XIII, fig. 17), mais ce dernier s'en distingue par la double constriction de l'hémisomate, la première subapicale et la seconde médiane et par son apex ellipsoïdal. De plus, la majeure partie de la région apicale est lisse, l'ornementation verruqueuse étant marginale.

Cette nouvelle espèce a été illustrée (vue de profil seulement) par Iltis (1984) sous l'appellation de *Cosmarium sp. 1*.

Diagnose latine :

Cosmarium in apicale visu circulare cum constrictione diametro isthmi. Ornamentum hemicellulae in mediana parte et in apice cum verrucorum ordinibus parallelis cum cellulae axe.

In apicale parte, 15-16 ordines in radiis dispositi; in mediana parte, 28 ad 32 ordines. In alteribus partibus hemicellulae, paries sine ornamentu. Cellulae longitudo : 45-58 µm; latitudo : 26-36 µm; isthmi latitudo : 19-25 µm.

In lacubus Khotia, Janckho Khota, quarta laguna et Laguna Negra in valle Ichu Khota, Bolivia (18-11-1982).

Iconotypus : pl. 5, fig. 4 et 5.

Cosmarium quadrifarium var. ***quadrifarium*** fo. ***octastichum*** Nordstedt, 1888, *Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl.* 22 (8) : p. 49. (pl. 1, fig. 7-8; pl. 2, fig. 1 à 5).

Cellules de 47 à 60 µm de longueur et de 38 à 48 µm de largeur. Le contour de nos exemplaires (pl. 1, fig. 7) correspond bien à celui de *Cosmarium hexastichum* Lundell décrit en 1871 et dont Nordstedt (1873) a tout d'abord créé une variété *octastichum* qu'il a ramenée, par la suite (1888) au rang de forme de *C. quadrifarium* Lundell (1871) sans jamais fournir de figure. Par ailleurs, les dimensions de nos échantillons coincident bien avec celles données par Nordstedt (1888). De même, la marge de l'hémisomate présente bien huit séries de verrues (pl. 1, fig. 8 et pl. 2, fig. 1). Parfois, cependant, on peut en compter jusqu'à dix par endroits sur certains hémisomates (pl. 2, fig. 2). Les verrues marginales sont simples, dédoublées voire même divisées en trois (pl. 2, fig. 5). Elles atteignent 1,5 à 2 µm de hauteur.

La tumeur centrale de chaque hémisomate est composée, en moyenne de huit à dix séries parallèles de verrues simples ou dédoublées, et en nombre variable (pl. 1, fig. 7 et pl. 2, fig. 3 et 4). Les cellules observées par Krieger et Bourrelly (1956) dans les Andes du Vénézuela, montrent aussi cette variabilité de l'organisation de la tumeur centrale, de même que celles décrites par Kuzel-Fetzmann (1973) du Costa-Rica, de Colombie et du Vénézuela.

La paroi présente de 40 à 50 perforations pour 100 μm^2 (pl. 2, fig. 2).

Selon Prescott *et al.* (1981), cette forme est connue d'Amérique du nord et du sud, d'Angleterre, d'Europe, d'Asie et de Nouvelle Zélande.

Cette forme a été illustrée par Iltis (1984) sous l'appellation de *Cosmarium sp. 2.*

Origine de l'échantillon : 4e et 5e lacs de la vallée d'Ichu Khota.

Staurodesmus pachyrhynchus (Nordstedt) Teiling, 1967, *Ark. f. Bot.* ser. 2, 6 (11) : p. 499 et pl. 3, fig. 9, 10, 11 et 13. (pl. 3, fig. 1 à 4).

Cellules de 42 à 48 µm de longueur sur 38 à 44 µm de largeur; isthme 7-8 µm. Hémisomates à trois (pl. 3, fig. 3), quatre (pl. 3, fig. 4) ou cinq bras arrondis (pl. 3, fig. 1), selon les cellules.

Les exemplaires que nous présentons ont tous un hémisomate granuleux. Il s'agit du mucilage concrétionné lors de la déshydratation.

L'espèce est cosmopolite.

Origine de l'échantillon : lac Khara Khota.

Staurastrum stelliferum Borge, 1925, *Ark. f. Bot.* 19 (17) : p. 42 et pl. 6, fig. 3 et 4. (pl. 4, fig. 1 à 4).

Cellules de 32-33 µm de longueur (sans les bras); largeur (sans les bras) : 16 µm; longueur des bras : 38 à 40 µm; isthme : 10-12 µm.

L'échantillon présenté, à quatre bras, correspond bien, par ses dimensions et son contour (pl. 4, fig. 1) à la figure 3a de la planche 6 de Borge (1925). Par contre, ici, les bras montrent une bordure ondulée (pl. 4, fig. 1, 2 et 4) alors que les figures de Borge la présentent rectiligne, tout comme celles données par Förster (1969, pl. 42, fig. 6 et 7) ou encore par Tell (1980, pl. 16, fig. 3). La méthode d'étude faisant appel au M.E.B. permet de mieux apprécier des détails aussi subtils.

Chacun des bras se termine par quatre longues épines (pl. 4, fig. 4) divergentes, émoussées (longueur : 4 à 5 µm), tout comme chez les échantillons décrits par Borge ou par Förster alors que ceux de Tell ont des épines plus courtes et robustes.

Le corps cellulaire de nos exemplaires ne porte pas d'épine forte (pl. 4, fig. 3) à la base des bras et autour de l'isthme comme c'est le cas pour ceux dessinés par Förster (surtout la figure 7 de la planche 42).

Espèce signalée, à notre connaissance, du Brésil et d'Argentine.

Origine de l'échantillon : lac Khara Khota.

Staurastrum valdiviense Thomasson var. ***ornatum*** var. nov. (pl. 3, fig. 5 à 8 et pl. 5, fig. 6 et 7).

Cellules de 28 µm de longueur et 54 µm de largeur; isthme de 9 à 11 µm.

Cette nouvelle variété se distingue du type de l'espèce par l'allure tronconique de la base de l'hémisomate et non renflée, contrairement à ce que montrent les figures II : 7 de Thomasson (1955), et 42 : 16 (Thomasson, 1963). Par ailleurs, notre taxon est orné, dans la région supraisthmale (pl. 3, fig. 5) d'une couronne de petites épines inexistantes chez les échantillons de Thomasson.

Nous rapportons, toutefois, notre algue à l'espèce *valdiviense* en raison de la convergence bien marquée des bras et de l'absence d'épines à l'extrémité de ceux-ci (pl. 3, fig. 6 et 7).

La vue apicale que nous fournissons (pl. 3, fig. 7) correspond bien à la seule micrographie publiée de l'apex (Dürrschmidt, 1985), les figures de Thomasson ne montrant que des profils de cellules.

La figure 8 de la planche 3 précise les détails de l'ornementation pariétale apicale. On peut constater, sur ce document, qu'elle est faite, par côté, d'une unique série marginale de 6 verrues peu marquées. Il serait intéressant de pouvoir comparer avec les apex de cellules du type de l'espèce.

Staurastrum valdiviense n'avait été observé, jusqu'à présent, qu'au Chili (Thomasson, 1955, Lac Panguipulli et lac Rinihue; Thomasson, 1963, lacs Calafquen, Pellaifa et Villarrica; Dürrschmidt, 1985, Banada Cruces).

Cette nouvelle variété a été signalée et dessinée par Iltis (1984) sous l'appellation de *Staurastrum valdiviense*.

Origine de l'échantillon : 1er et 4e lacs de la vallée d'Ichu Khota.

Diagnose latine :

Haec varietas hemicellulae basis forma trunconica et non inflata et in supraisthmiale parte coronae minutarum spinarum praesencia a typo speciei differt.

Cellulae longitudo : 28 µm; latitudo : 54 µm; isthmi latitudo : 9-11 µm.

In primo (Khara Khota) et quarto lacubus in valle Ichu Khota, Bolivia, 18-11-1982.

Iconotypus : pl. 5, fig. 6 et 7.

Staurastrum varians Raciborski, 1885, *Pamietn. Akad. Umiejetn. w. Krakowie, Wydz. Mat.-Przyr.* III (10) : p. 86, pl. 12, fig. 1 (pl. 4, fig. 5 à 8).

Cellules de 36 µm de longueur sur 23 à 24 µm de largeur; isthme : 14 µm.

L'échantillon présenté ici est quadriradié mais Iltis (1984) signale l'existence d'exemplaires triradiés. Raciborski (1885), dans sa description originelle, en décrit même de biradiés.

Les micrographies 5, 6 et 7 de la planche 4 montrent que la cellule présente à chacun de ses angles cinq à six séries de petites épines. Chaque pôle, pour sa part, est orné de cinq à six courtes épines (pl. 4, fig. 7).

La paroi de la cellule est perforée de pores (40 à 45 pour 100 μm^2) de 0,1 à 0,2 µm de diamètre, à disposition régulière (pl. 4, fig. 8).

L'espèce est cosmopolite.

Origine de l'échantillon : lac Khara Khota.

CONCLUSIONS

L'étude en microscopie électronique à balayage de sept taxons des lacs andins a permis de décrire deux variétés et une espèce nouvelle . De plus, la structure et l'ornementation de la paroi cellulaire de quatre taxons déjà connus ont pu être précisées. Parmi ces derniers, trois sont cosmopolites et le quatrième est signalé du Brésil et de l'Argentine.

L'inventaire plus général, effectué sur des récoltes faites en novembre 1982 dans ces milieux par l'un de nous (A. I.) a mis en relief l'importance du nombre de taxons appartenant aux Chlorophycées (81 %), et principalement aux Desmidiées (58 % de l'ensemble de la florule), dans la flore algale de ces lacs d'altitude, la plupart des taxons inventoriés étant cosmopolites.

Des observations ultérieures faites chaque mois en 1985 et 1986 ont permis de collecter des informations sur les conditions de milieu dans ces lacs. Si les températures de surface au cours de l'année sont de l'ordre de 8 à 11 °C dans l'après-midi dans le lac le plus bas (Khara Khota), elles ne sont que de 3,5 à 6,5 °C dans le plus élevé (Laguna Negra). Durant la période hivernale (juin à août), la surface des quatrième et cinquième lacs de la vallée peut être recouverte durant la nuit et la matinée d'une mince pellicule de glace qui disparaît généralement en fin de matinée en raison de l'ensoleillement intense qui règne en cette période de l'année. Les premiers lacs de la vallée, par suite de leur altitude plus faible et de leur inertie thermique plus grande (la superficie et le volume des lacs diminuent à mesure que l'on s'élève dans la vallée), ne sont jamais recouverts de glace. La conductibilité électrique à 25 °C des eaux varie annuellement entre 20 et 48 μS cm^{-1} dans le lac le plus bas et entre 4 et 17 dans le plus haut. Les pH, enfin, se situent entre 6,30 et 7,32 à Khara Khota et entre 5,34 et 7,15 dans Laguna Negra.

L'étude des échantillonnages de phytoplancton effectués ces deux dernières années devrait mettre en évidence la stratification altitudinale existant éventuellement pour les lacs de cette vallée et des vallées voisines.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BORGE O., 1925 – Die von Dr. F.C. Hoehne während der Expedition Roosevelt-Rondon gesammelten Süsswasseralgen. *Ark. Bot.* 19 (17) : 1-56 et 6 pl.

DÜRRSCHMIDT M., 1985 – Beitrag zur Kenntnis der Desmidiaceen des Banado Cruces, Provinz Valdivia, Chile. *Biblioth. Phycol.* 73 : 1-138 et 25 pl.

FÖRSTER K., 1969 – Amazonische Desmidieen. 1. Teil : Areal Santarem. *Amazoniana* 2 (1/2) : 5-116 et 56 pl.

ILTIS A., 1984 – Algues du lac Titicaca et des lacs de la vallée d'Ichu Khota (Bolivie). *Cryptogamie, Algol.* 5 (2-3) : 85-108.

KRIEGER W. & BOURRELLY P., 1956 – Desmidiacées des Andes du Venezuela. *Ergeb. d. deutsch. Limnol. Venezuela-Expedition 1952*, 1 : 141-195.

KÜZEL-FETZMANN E., 1973 – Beiträge zur Kenntnis der Algenflora der Hochgebirge Zentralamerikas und der Nördlichen Anden. *Hochgebirgsforschung, Universitätverlag Wagner, Innsbrück* 3 : 29-68.

LUNDELL P.M., 1871 – De Desmidiaceis quae in Suecia inventae sunt, observationes criticae. *Acta Soc. Regiae Sci. Upsal.*, III 8 (2) : 1-100 et 5 pl.

MESSIKOMMER E., 1942 – Beitrag zur Kenntnis der Algenflora und Algenvegetation des Hochgebirges um Davos. *Beitr. Geobot. Landesaufn. Schweiz.* 24 : 1-452.

NORDSTEDT C.F.O., 1873 – Bidrag till kännedomen om Sydligare Norges Desmidiéer. *Acta Univ. Lund.* 9 : 1-51 et 1 pl.

NORDSTEDT C.F.O., 1888 – Freshwater algae collected by Dr. S. Bergren in New Zealand and Australia. *Kongl. Svenska Vetensk.-Akad. Handl.* 22 (8) : 1-98 et 7 pl.

NORDSTEDT C.F.O. & WITTROCK V.B., 1876 — Desmidiae et Oedogoniae ab o Nordstedt in Italia et Tyrolia collectae, quas determinaverunt. *Öfvers. Förh. Kongl. Svenska Vetensk.-Akad.* 6 : 25-56 et 2 pl.

PRESCOTT G.W., CROASDALE H.T., VINYARD W.C. & BICUDO C.E.M., 1981 — *A synopsis of North American Desmids II. Desmidiaceae : Placodermae. 3.* Univ. Nebraska Press. Lincoln and London, 720 p.

RACIBORSKI M., 1885 — De nonnulis Desmidiaceis novis vel minus cognitis, quae in Polonia inventae sunt. *Pamietn. Akad. Umiejetn. w. Krakowie, Wydz. Mat.-Przyr.* 3 (10) : 57-100, pl. 10-14.

SERVANT-VILDARY S., 1984 — Altitudinal zonation of mountainous Diatom flora in Bolivia : application to the study of the Quaternary. *Acta Geol. Acad. Sci. Hung.* 25 (1-2) : 179-210.

TEILING E., 1967 — The desmid genus Staurodesmus. A taxonomic study. *Ark. Bot.* ser. 2, 6 (11) : 467-629 et 31 pl.

TELL G., 1980 — Le genre *Staurastrum* (Algues, Chlorophycées, Desmidiées) dans le nord-est de l'Argentine. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. (Paris)*, 4e sér. 2 B : 145-207.

THOMASSON K., 1955 — Studies on South American Fresh-water Plankton. 3. Plankton from Tierra del Fuego and Valdivia. *Acta Horti Gothob.* 19 (6) : 193-225.

THOMASSON K., 1963 — Araucarian lakes. Plankton studies in North Patagonia with notes on terrestrial vegetation. *Acta Phytogeogr. Suec.* 47 : 1-139.

LÉGENDES DES PLANCHES

Planche 1

Fig. 1 à 6 : *Cosmarium andinum* sp. nov. — fig. 1 et 2 : vues d'ensemble d'une cellule de profil ou de biais; fig. 3 : détail d'un hémisomate en biais; fig. 4 : détail de l'isthme; fig. 5 et 6 : deux apex.

Fig. 7 et 8 : *Cosmarium quadrifarium* var. *quadrifarium* fo. *octastichum* Nordstedt. fig. 7 : vue de face d'une cellule; fig. 8 : vue de profil d'une cellule.

Les traits d'échelle représentent 10 μm.

Planche 2

Fig. 1 à 5 : *Cosmarium quadrifarium* var. *quadrifarium* fo. *octastichum* Nordstedt. — fig. 1 : profil d'une cellule; fig. 2 : détail d'un apex; fig. 3 et 4 : région de la tumeur médiane de deux cellules différentes; fig. 5 : détail de l'ornementation pariétale d'un fragment de séries de tumeurs marginales.

Fig. 6 à 8 : *Euastrum pseudotuddalense* Messikommer var. *perforatum* var. nov. — fig. 6 : vue d'ensemble d'une cellule; fig. 7 : vue de profil d'une cellule; fig. 8 : vue de l'apex d'une cellule.

Les traits d'échelle représentent 10 μm, sauf indication contraire.

Planche 3

Fig. 1 à 4 : *Staurodesmus pachyrhynchus* (Nordstedt) Teiling. — fig. 1 : vue d'un apex à cinq pôles; fig. 2 : vue de profil; fig. 3 : vue d'un apex tripolaire; fig. 4 : vue d'un apex à quatre pôles.

Fig. 5 à 8 : *Staurastrum valdiviense* Thomasson var. *ornatum* var. nov. — fig. 5 et 6 : vues de profil de deux cellules différentes; fig. 7 : vue d'un apex d'une cellule; fig. 8 : détail de la région centrale d'un apex.

Les traits d'échelle représentent 10 μm.

Planche 4

Fig. 1 à 4 : *Staurastrum stelliferum* Borge. — fig. 1 : vue d'ensemble d'une cellule de profil; fig. 2 : vue d'un apex; fig. 3 : détail de l'isthme; fig. 4 : détail de l'extrémité d'un bras.

Fig. 5 à 8 : *Staurastrum varians* Raciborski. — fig. 5 : vue d'ensemble d'une cellule de profil; fig. 6 : vue d'un apex; fig. 7 : détail d'une portion de la région isthmale; fig. 8 : détail d'un fragment de la paroi montrant des pores.

Les traits d'échelle représentent 10 μm, sauf indication contraire.

Planche 5

Fig. 1 à 3 : *Euastrum pseudotuddalense* Messikommer var. *perforatum* var. nov. — fig. 1 : vue de face de la cellule; fig. 2 : vue de profil; fig. 3 : vue de l'apex.

Fig. 4 et 5 : *Cosmarium andinum* sp. nov. — fig. 4 : vue d'ensemble de la cellule; fig. 5 : vue de l'apex.

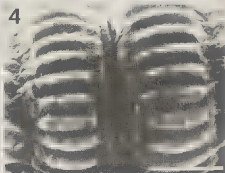
Fig. 6 et 7 : *Staurastrum valdiviense* Thomasson var. *ornatum* var. nov. — Fig. 6 : vue latérale de la cellule; fig. 7 : vue d'ensemble.

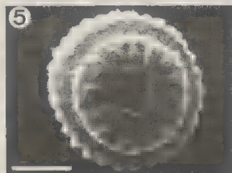
Les traits d'échelle représentent 10 μm.













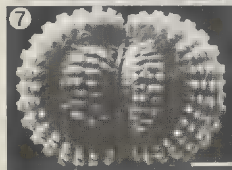
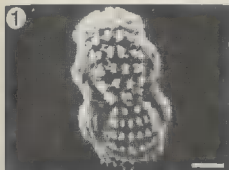
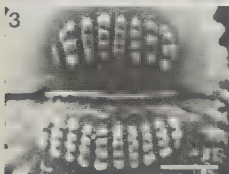




Planche 1





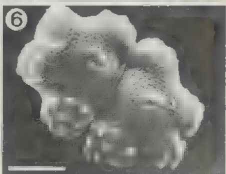
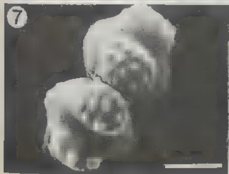
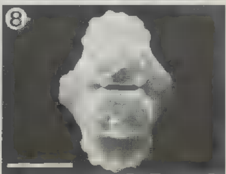
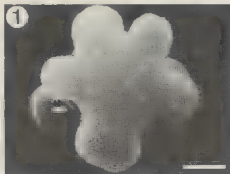
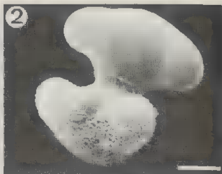
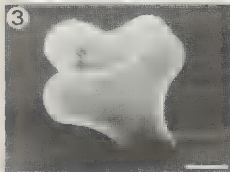





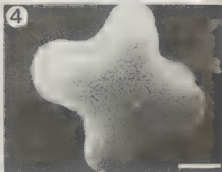
Planche 2













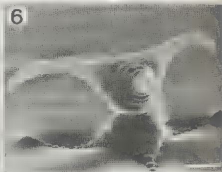






Planche 3

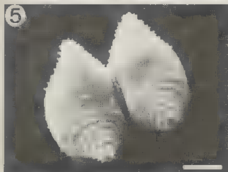


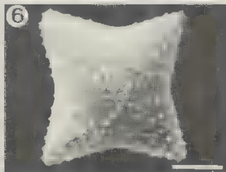












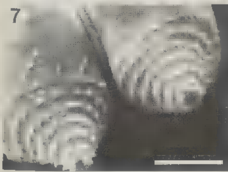




Planche 4



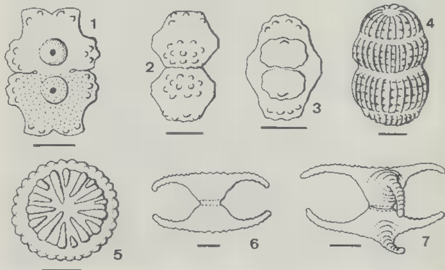


Planche 5

CYCLOTELLA CASPIA (BACILLARIOPHYCEAE) IN SOME RIVERS AND LAKES IN EUROPE (MORPHOLOGICAL OBSERVATIONS).

K.T. KISS*, M. COSTE**, R. LE COHU*** and M. NAUSCH****

ABSTRACT. – Electron microscopic investigations showed that *Cyclotella caspia* Grun., known primarily from seas and brackish waters is also to be found in several European rivers and lakes. The species exhibits a great variability of morphological features, mostly based on the degree of silicification of the frustules. Thus, forms with short and long costae, with more circular or longitudinally elongated alveoli could be distinguished. In addition a range of transitional forms could be recognized. The average number of costae measured in 10µm, is smaller than what is written in literature. This difference is probably to be attributed to the use of internationally recommended system (Anonymous, 1975), while the authors used Genkal's method (1977) more suitable for the small species of the Thalassiosiraceae. Our own observations and other literature data show that *Cyclotella caspia* is of general occurrence in the freshwaters of Europe and probably of world wide distribution.

RÉSUMÉ. – Des études en microscopie électronique ont montré que *Cyclotella caspia* Grun., connu à l'origine seulement en milieu marin et saumâtre, se rencontre également dans plusieurs rivières et lacs d'Europe. Cette espèce présente une grande variabilité morphologique liée le plus souvent au degré de silicification des frustules. Côtes longues ou courtes, alvéoles circulaires ou allongées permettent de distinguer différents types avec toute une série de formes de transition. Le nombre moyen de côtes en 10 µm est inférieur à celui donné par la littérature. Cette différence est due au fait que les auteurs utilisent la méthode de Genkal (1977), plus fiable pour les petites espèces de Thalassiosiraceae, et non celle préconisée (Anonyme, 1975). Nos propres observations et d'autres données de la littérature montrent que *Cyclotella caspia* a une large répartition dans les eaux douces non seulement en Europe mais aussi dans d'autres continents.

KEY WORDS : Bacillariophyceae, Centrales, *Cyclotella*, morphology, taxonomy, geographical distribution, Europe.

* Hungarian Danube Research Station, Hungarian Academy of Sciences, Göd. Javorka S.u.14, H-2131, Hungary.

** CEMAGREF, 50 avenue de Verdun, Gazinet F-33610 CESTAS France.

*** Laboratoire d'Hydrobiologie U.A. 695 C.N.R.S., Univ. P. Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse France.

**** Institut f. Pflanzenphysiologie Universität Wien, Abteilung Hydrobotanik, A-1090 Wien Althanstr., 14 Austria.

INTRODUCTION

The increasingly application of electron microscopy (EM) during the past decades has contributed much new information to our knowledge of the species of the Thalassiosiraceae family. These results are important not only from the aspect of taxonomy, helping to establish the exact taxonomic position of many species, but also of their distribution and ecology.

Several species primarily known from brackish waters and the sea, also occur in freshwaters, and often in appreciable numbers; one such species is *Cyclotella caspia*, which was described by Grunow (1878) from the Caspian Sea. Later, Hasle (1962), Proshkina-Lavrenko (1959, 1963), Sullivan (1978, 1981), Nesterova (1985) and Genkal & Makarova (1986) also encountered it in marine samples. The first information on its freshwater occurrence was by Florin (1970), and this was followed by Foged (1980), Johanssen *et al.* (1983), Archibald (1983) and Nagumo & Kobayasi (1985). On the basis of the electron microscopic material it is confirmed that *C. caspia* also exists in several European freshwater habitats. This paper attempts to give a more complete picture of the morphological features of this species by means of TEM and SEM studies. Information will also be given concerning distribution, quantitative relationship and some ecological aspects of *C. caspia*.

MATERIAL AND METHODS

Samples were collected at the following places (Fig. 1) :



Fig. 1 — Sampling points in the course of the investigation of *Cyclotella caspia*.

Austria - rivers : the Danube (near Klosterneuburg), Traun, Enns (before it meets the Danube); Saisser.

Czechoslovakia - lake : In a small lake near Karolinka village.

France - rivers : the Loire (near Blois), the Rhône (near Avignon), the Meuse and the Moselle (near the Belgium border), Canal du Midi (near Toulouse).

German Federal Republik - river : the Elbe (near Hambourg).

Hungary - rivers : the Danube (near Göd, Budapest) the left bank of Danube (near Cikolasziget), Tisza (near Tokaj, Tiszalök), Szamos (near Vasarosnamény); canals : Eastern Main Canal (near Tiszalök, Balmazujvaros); lake : Lake Balaton (Keszthely bay).

Poland - river : the Vistula (downstream from Goczalkowice Reservoir).

Scooped samples were taken from the near the surface layer and fixed with lugol solution. In some samples, the quantity of phytoplankton was also determined by Utermöhl's method (Lund *et al.*, 1958).

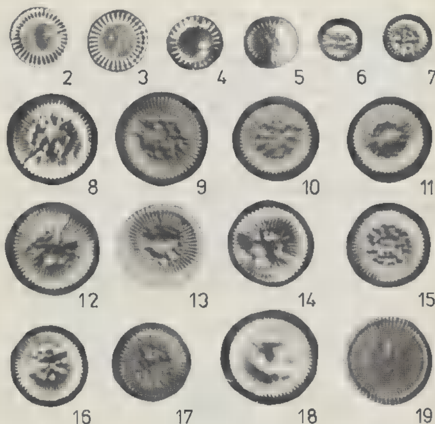
The morphological examinations of *C. caspia* were performed under light and electron microscope. Sedimented plankton samples were digested with hydrogen peroxide and washed with distilled water. For light microscopic examination the cleaned samples were mounted in Naphrax resin (R.I. = 1,74). The usual methods were used for E.M. studies. On the one hand, an OPTON inverted microscope, a ZEISS Amplival microscope, a Nacher NS400 and a Reichert Biovar were used for light microscope studies, a TESLA BS 500, a ZEISS EM 9-S2 and a JEOL 100 S, plus JEOL JSM 35 scanning electron microscope for TEM and SEM studies on the other hand.

The structural elements of the valves were measured and analyzed on the basis of the papers by Genkal (1977), Genkal & Kuzmin (1979a) and terminology after Anonymous (1975) and Ross *et al.* (1979).

RESULTS

1) Morphological features of *Cyclotella caspia* Grunow.

The cells are tiny, with diameters less than 21 µm and rectangular in girdle view. Under the light microscope, only the structure of cells larger than 8-10 µm is discernible. On the valve mantle, densely located costae can be seen, surrounding a structureless central part, which is occasionally covered with minute spots. In the central zone tangential folds are frequent and one stigma can be found (Fig. 2-19). Further details of the structural characteristics of this species have been obtained with the electron microscope. The costae start from the valve mantle and reach about 1/3 of the radius. The number of costae ranges from 9 to 25 in 10 µm (Table 1). The costae are generally short, occasionally longer, with a few dichotoming branchings on the valve mantle. The central part of the valve face has a very characteristic pattern, which is visible mainly in SEM micrographs (Figs. 20-23, 41). The central part with a light tangential fold across it, is superficially ornamented with tiny, irregularly protuberances.



Figs. 2-19 : LM. Valve view of *Cyclotella caspia*. — 2-4 : Specimens from Loire. 5-19 : Specimens from the Danube. Scale 10 μm.

Table 1 : Data and measurements of the valve structure elements of *Cyclotella caspia*.

	D	Nc	Tnmsp	Nmsp	c / m	(D-Dc)/D
min.- max.	3.8-21.0	9.0-25.0	3.0-20	2.6-5.1	2.9-9.7	0.22-0.64
x	8.115	16.618	9.494	4.005	4.233	0.372
Sx	0.370	0.398	0.497	0.076	0.190	0.011
S	3.371	3.590	3.888	0.595	1.503	0.104
S^2	11.229	12.732	14.872	0.348	2.221	0.011
CV	41.540	21.603	40.960	14.856	35.506	27.956

D: diameter of valve; Nc: number of costae in 10 μm; Tnmsp: total number of marginal strutted processes; Nmsp: number of marginal strutted processes in 10 μm; c/m: number of costae divided by number of marginal processes; (D-Dc)/D: diameter of valve minus diameter of central part of valve divided by diameter of valve; x: mean value; Sx: error of mean value; S: corrected scatter; S^2 : variance; CV: variation coefficient. Number of data : 81.

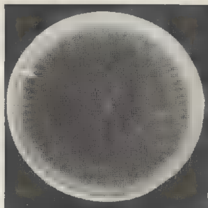
The small circular opening of the central strutted process is of excentric location. On the arched mantle of the valve, the external pores of the marginal strutted processes occur in regular arrangement (Figs. 23-24, 41). In the immediate vicinity of the pores, the costae are somewhat widened. On the valve mantle tiny denticles granules are occasionally present on the costae (Fig. 24). The inner part of the valve is quite different from the outer part. The shape of costae, which are shorter and arched are best visible. The alveoli are generally small, elongated and oval. The tangential fold of the central zone is often more conspicuous on the inner surface than on the outer one (Figs. 25, 99).

The inner tube of each marginal strutted process is about one and half-twice as long as respectively the two satellite pores besides it. Marginal strutted processes generally occur on every third costa, occasionally less frequently. Sometimes they are only visible on every 5-8 costa and they are irregularly distributed (Fig. 27). The central strutted process is more or less excentrically located with three, rarely two satellite pores. In the material examined, only occasionally were observed valves, having two or three central strutted processes (Fig. 28). The external pore of the labiate process is identical with those of the strutted processes. The lips are at times parallel with the costae, sometimes normal to it or obliquely located (Figs. 29, 30). Only a single valve was found, that had two labiate processes (Fig. 28). Sometimes the labiate process does not occur on the valve mantle, but on the valve face at a greater distance from the mantle (Figs. 20, 40).

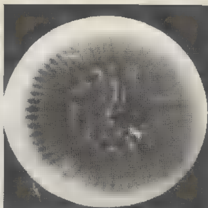
The structure of the alveolar field between the costate is well seen in the TEM micrographs. In some valves, the alveoli are broadly rounded and relatively short, in other cases more elongated with longitudinal rows of finely perforated pores. In some specimens, more marked siliceous bars develop transversally, forming concentric rings which run parallel with the valve mantle (Figs. 26, 32). In these specimens the pores of the alveoli are circular. Occasionally the costate run a longer distance to the central part, and in such cases the inner rim of alveoli does not appear to be fully closed in the TEM micrographs.

2) Occurrence of *Cyclotella caspia* in a few European freshwaters

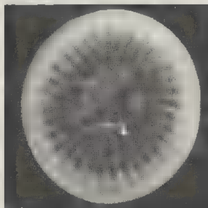
Most data about *C. caspia* originate from the Danube and its tributaries. This species was rarely abundant. However, during the vegetation period, the Danube is characterized by a low water level, a low speed of flow and often several ten million phytoplankton individual numbers per liter (Kiss, 1984 a, b, c, 1986). Then the abundance of *C. caspia* occasionally reached 100-150 thousand ind./l in the phytoplankton of the Budapest section of the Danube. It was also twice recorded from periphyton samples. We have very rare data on its occurrence in the Austrian tributaries of the Danube (see Fig. 1). Its presence was noted on 13 occasions in the Tisza, Szamos and the Eastern Main Canal. It was also found on 3 occasions in the Keszthely region of the western basin of Lake Balaton. It also occurs regularly in Lake Saisser in the central part of Austria (7 occurrences).



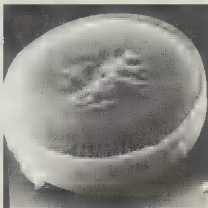
20



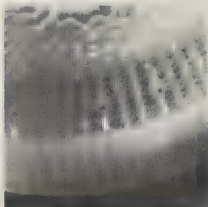
21



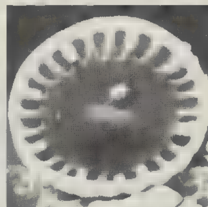
22



23



24



25

The other rich material originates from France, in the Tours-Orléans section of the Loire. Examinations showed *C. caspia* to occur there in fairly large number in summertime (about 10 to 100 thousand ind./l). This species was also found in the autumn sample taken from the Toulouse section of the Canal du Midi. On a few occasions, its presence was recorded in the Hamburg section of the Elbe, and the section of the Vistula river below the Goczalkowice Reservoir. We have some data from a small lake near Karolinka (in the mountain West Beskidy).

DISCUSSION

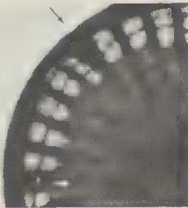
During the morphological investigation of *C. caspia* the greatest difficulty was encountered in connection with the light microscopic identification of this species. It is seldom possible to observe each morphological feature, that is necessary for proper identification. In the case of specimens less than 8-10 µm it is hardly possible to count the exact number of costae (which in addition vary within a wide range). Moreover, the marginal strutted processes are then not visible. For the Danube material, the pattern of protuberances in the central part of the valve face, appearing as fairly conspicuously spotted under the light microscope, was the most useful feature for identification (Fig. 5-17). In the samples from the Loire, the tangential depression in the central part of the valve face, and the definite inner margins of alveoli could be seen quite well (Fig. 2-4).

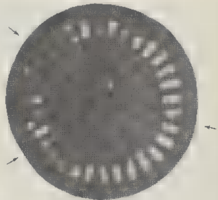
Since *C. caspia* occurs together with the more frequent *C. atomus* Hust., it is often difficult to differentiate the two, particularly in the case of small specimens. The costae of *C. atomus* are spaced at greater distances and are not of equal length; the marginal strutted processes located at every 3-4 stria are generally well noticeable as minute spots. The central siliceous field of *C. atomus* is not spotted with minute protrusions and there is no tangential depression. This difference was also pointed out by Nagumo & Kobayasi (1985).

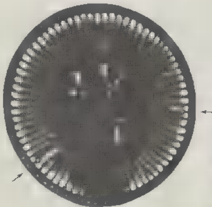
We can presume on the base of Genkal & Makarova's paper (1986), that under the light microscope *C. caspia* cannot be distinguished, or is difficult to

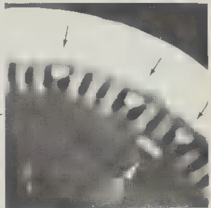
---

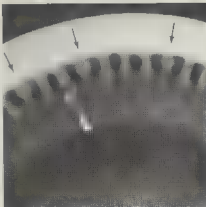
Figs. 20-25 : SEM. Specimens from the Danube. Scale : 2 µm. Figs. 20-21 : External view of valve face with the characteristic feature of central part, and with pore of central strutted process and labiate process (arrowed). Figs. 22 : External view with costae dichotomously branched and with the pore of central strutted process (arrowed). Fig. 23 : External view showing the pores of marginal strutted processes and the tangential fold of central part. Fig. 24 : External view of a detail of valve mantle, with the pores of marginal strutted processes (arrowed), showing the costae and the external feature of alveoli. Fig. 25 : Internal view of valve face showing the marginal strutted processes on the costae, with two satellite pores, the central strutted process in excentric position with three satellite pores, and the tangential fold of central part.

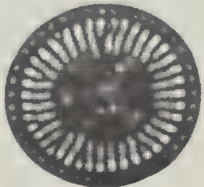

26


27


28


29


30


31



separate from the *C. affinis* (Proshkina-Lavrenko et Makarova) Makarova et Genkal thus labelled by Proshkina-Lavrenko (1959, 1963) or Genkal & Makarova (1986). This latter species is, however, known as a marine one, and we have no information concerning its freshwater occurrence.

Our experiments showed that in a particular water body, *C. caspia* can generally be detected on the basis of EM studies if it is fairly abundant.

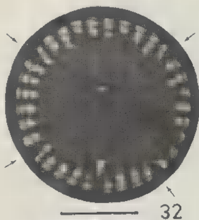
The EM studies clearly suggest that the morphological features of *C. caspia* depend on the degree of silicification of the frustules. Consequently, it is also likely that the populations of this species inhabiting various waters differ with regard of some features.

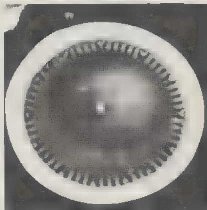
Comparison with literature data shows a high morphological variation for this species concerning both costae and alveoli. Our minimum and maximum values for the number of costae in 10 μm correspond with the literature but the average values are lower. However, only the data by Hasle (1962), and Genkal & Makarova (1986) were used for comparison purposes because the other papers did not contain average values. Nevertheless, our lower values might be the result of the fact that the number of costae in 10 μm was originally established by using Genkal's method (1977); i. e. we calculated the number of costae in 10 μm from the total number of costae of the circumference. Values thus obtained by Genkal & Makarova (1986) were also lower than those they measured according to Anonymous (1975). Similarly, if the number of costae of specimens in the two TEM micrographs shown in Archibald's paper (1983) are estimated after Genkal's method (1977), the values obtained (15,7 respectively 16,3 in 10μm) will be those of the lower limit again (in Archibald's paper the number of striae is 16-28 in 10 μm).

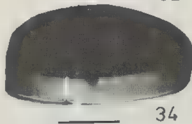
These facts indicate, that there are problems with the measuring methods of the small-sized species of Thalassiosiraceae. We suggest that Genkal's method (1977) should be followed, and think it would be appropriate to revise the international recommendation (Anonymous, 1975; Ross *et al*, 1979).

As regards the morphology of costae, two essentially different types can be distinguished, with several transitions between them.

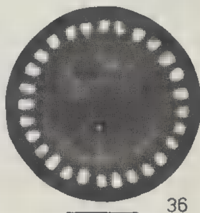
Figs. 26-28, 31 TEM, 29-30 SEM. Scale : 2 μm – Fig. 26 : Detail of valve margin. Structure of alveoli with little pores circular, concentric ring run parallel with the mantle, the marginal strutted process and the pore of labiate process (arrowed, specimen from the Danube). Fig. 27 : Valve with four marginal strutted processes in asymmetrical position (arrowed, specimen from the lake Saisser). Fig. 28 : Valve with three central strutted processes and two labiate processes (arrowed, specimen from the periphyton of the Danube). Figs. 29-30 : Detail of internal part of valve mantle showing the costae, the marginal strutted processes (arrowed with black), and the different position of labiate process (arrowed with white, specimens from the Danube). Fig. 31 : Characteristics features of a slightly silicified valve with the long costae, with the «external» (white) and «internal» (grey) part of alveoli. The pore of the labiate process is arrowed (specimen from the Danube).

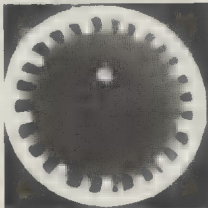

32

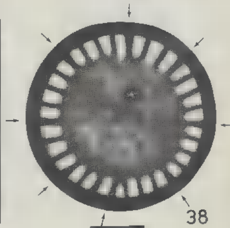

33


34


35


36


37


38

In one case, the costae are short, radially straight (Figs. 25, 26, 32, 37, 44) and arched following the course of the valve mantle (Fig. 39). The costae in the figures presented by Genkal & Makarova (1986) and the TEM micrograph 31a and the carbon replica photos 11,30 from Hasle's paper (1962) are more or less identical to those. In the other case, the costae are long, radial, more or less straight, some of them dichotomically branching. This type can be well observed in TEM micrographs (Figs. 28, 31, 40) as well as the SEM pictures showing the superficial morphology of the valve (Figs. 20, 23, 42). In SEM micrographs, showing the inner part of the valve mantle, the costae appear very similar to those of the first type because of their extensions which are undistinctly seen in the photographed specimens (Figs. 29-30, 33).

Transitions were also found between the two types above (Fig. 27, 42-44). Similar transitional forms can be seen in the micrographs presented in figures 513, 514 by Archibald (1983), in figures 5, 6, 10, 12-15, 29 by Hasle (1962), and figures 15-19 by Nagumo & Kobayasi (1985). In the latter ones, (pictures 17, 19 : SEM, inner part of the valve face) the longer costae are visible.

All these examinations confirm that the broad scale of transitions between the short and long forms of costae depends on the degree of silicification of the frustule. Valves less silicified have definite long costae on the valve face. On the inner part of the valve face only the arched short part of each costa is discernible. With the progression of the silicification the costae are less distinct over all their length, and only their short arched marginal parts are visible.

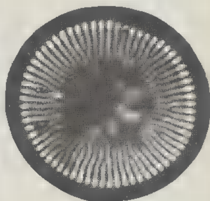
The length of costae and the ratio between the diameter of the valve face with costae and the diameter of the central part of valve face having no regular structure has been given in each paper published so far, so was the ratio characterizing a particular species (generally 0.2-0.3). Our data clearly show that this ratio is of no particular importance, and should not be used in identification. The value of (D-Dc)/D (the diameter of the valve minus the diameter of the central part of the face divided by the diameter of the valve) was generally found to be 0.3 in the case of specimens with short costae. With specimens

---

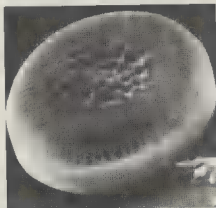
Figs. 32, 34-36, 38 TEM, 33, 37 SEM. Scale : 2 µm. — Fig. 32 : TEM structure of a valve showing the special feature of alveoli with little round pores and concentric rings, with four marginal strutted processes in regular position and the pore of labiate process (arrowed, specimen from the Danube). Fig. 33 : Internal view of valve, showing the last pleura often forms a thickened ring (specimen from the Danube). Fig. 34 : Structure of the valvocopula (specimen from the Danube). Fig. 35 : Detail of valve margin showing the long costae and the spine-like structure at the rim of mantle (specimen from the Danube). Fig. 36 : TEM structure of a valve more heavily silicified, with short costae and rounded alveoli (specimen from the Tisza). Fig. 37 : Internal view of a valve more heavily silicified showing the short costae, rounded alvoeli and the processes (specimen from the Tisza). Fig. 38 : TEM structure of a valve more heavily silicified showing the feature of alveoli. Among thin, longitudinal timber-like structures there are mainly long-shaped irregular pores (marginal strutted processes arrowed, specimen from the Loire).



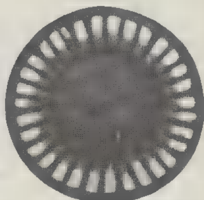
39



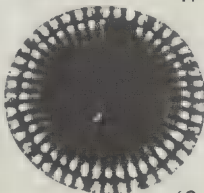
40



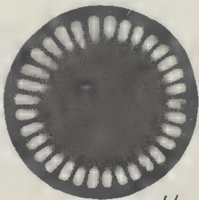
41



42



43



44



less silicified and having long costae this value was often more than 0.5 if the measurements were made on the basis of TEM micrographs or SEM pictures showing the valve face in external view. When the measurements were performed on SEM micrographs or SEM micrographs taken on the inner part of the valve face, and when parts of costae near the central part could not be clearly seen, the value for (D-Dc)/D in the case of the same specimen was only 0.2-0.3 again. As a matter of fact, the shape and structure of alveoli also depends on the degree of silicification, i.e. the shape and length of the costae.

SEM micrographs show that the more or less elongated oval chambers of the alveoli on the inner part of the valve face are identical in types with either short or long costae. TEM micrographs and SEM pictures of the valve face, however, point to a conspicuous difference between the afore-mentioned two types. The alveoli of specimens with short costae and heavier silicification are definitely rounded, closed towards the centre and the valve mantle (Figs. 25, 36, 38). Specimens silicified in a lesser degree and having long costae usually exhibit a definite alveolar margin towards the valve mantle, while towards the centre the alveolar margin is only indefinitely closed, and the perforated (areolated) outer layer runs a long distance radially (Figs. 20-23, 28, 31, 40).

In the case of transitions (which are frequent in the material from the Loire) the chambers of the alveoli are less definitely closed towards the valve mantle or towards the centre, or either (Figs. 42, 44). The TEM micrographs presented by Archibald (1983) and Nagumo & Kobayasi (1985) are similar to those. Sometimes the perforated external walls of the alveoli are not made up of longitudinal perforations, but of circular ones; concentric rings can be seen in them (Fig. 32).

On the basis of EM studies reported here, the morphological features necessary for good identification of *C. caspia* can be summarized as follows :

– The cells are rectangular in girdle view.

– The height of frustule is greater than its diameter.

– The most decisive features are the presence of the central strutted process and the light undulation of the central part of the valve face, i.e. the fact that on the inner part of valve face the alveoli are distinctly rounded both toward valve mantle and the centre. The former feature is usually well observable also in TEM micrographs, in the SEM micrographs, however, it is indisputably visible.

Figs. 39, 41 SEM, 40, 42-44 TEM. Scale : 2 µm. — Fig. 39 : Internal view showing the form of costae, alveoli and tangential fold of the central part (specimen from the Danube). Fig. 40 : TEM structure of a slightly silicified valve showing the feature of alveoli, the costae frequently branched and the pore of the labiate process at the middle of a costa (arrowed, specimen from the Danube). Fig. 41 : External view of a frustule slightly silicified showing the valve mantle, the long costae and the characteristic feature of central part (specimen from the Danube). Figs. 42-44 : TEM structure of the valve face. The structure of alveoli form a transition from the slightly to the more heavily silicified valves (specimens of Figs. 42-44 from the Loire, Fig. 43 from the Danube).

The light undulation can only be definitively recognized in SEM pictures. The other morphological features (the number of costae and strutted processes in 10 µm, the shape, length of costae, alveoli, the ratio of the central part of valve diameter) can vary within a large range and are thus of little value with regard to identification.

In these studies *C. caspia* was recorded about 100 times from [redacted] few European rivers and lakes. The studied waters are generally located very far from another geographically; they do not belong to a common, large catchment basin. *C. caspia* was found most frequently in the Danube and its tributaries, and in the Loire but in these rivers its frequency is not necessarily the highest. Probably only the sampling distribution and prospection activity are in this way reflected. Consequently the sporadic occurrence of *C. caspia* often very scarce, is highly probable everywhere in Europe and moreover in worldwide freshwaters (Archibald, 1983; possibly Giffen, 1963; Nagumo & Kobayasi, 1985). The same species was recorded by Genkal & Kuzmin (1979b) from a few rivers and lakes in the European part of the Soviet Union, although they identified it as *C. atomus* (see Pl. 1, Fig. 6, Pl. 3, Fig. 4).

There is no doubt that *C. caspia* was described from a sea with fairly low salinity and has been regarded by Proshkina-Lavrenko (1959) as a euryhaline and eurythermous species. Literature data and our own investigations have unequivocally shown that this species occurs in sea water, brackish water as well as freshwaters during the whole year. On the basis of our studies it has not been possible yet to point our morphological differences between the salt water and freshwater populations of this species.

ACKNOWLEDGEMENTS. — We are grateful to Prof. Dr. K. Carniel and Prof. Dr. Hesse for the kind help with the EM investigations at the Institute for Botany at Vienna. Thanks are due to Prof. Dr. K. Kusel-Fetzmann who collected samples from Saisser See and the river Elbe and to Mag. E. Feigl who revised the English text. We wish to extend our thanks to Miss Zsuzsa Gàcsi and to Miss Ilona Gyurek, laboratory technician at the Department of Plant Atanomy of Eötvös L. University (Budapest), for assistance with the TEM micrographs and to Mrs Vera Takàcs, Laboratory technician at the Hungarian National Geographical Institute (Budapest), for helping [redacted] in baring the SEM micrographs.

BIBLIOGRAPHY

ANONYMOUS, 1975 — Proposals for a standardization of diatom terminology and diagnoses. *Nova Hedwigia Beih.* 53 : 323-354.

ARCHIBALD R.E.M., 1983 — *The Diatoms of the Sundays and Great Fish Rivers in the Eastern Cape Province of South Africa.* Bibliotheca Diatomologica 1. J. Cramer, Vaduz, 431 p.

FLORIN M.B., 1970 — Late-glacial Diatoms of Kirchner Marsh Southeastern Minnesota. Diatomaceae II. *Nova Hedwigia Beih.* 31 : 667-756.

FOGED N., 1981 – Diatoms in Alaska. *Biblioth. Phycol.* 53 : 1-317 (24 pl).

GENKAL S.I., 1977 – K methodike podschota nekotorih taksonomicheski znachimih strukturnih elementon stvorki u diatomovih vodorosley sem. Thalassiosiraceae Lebour emend. Hasle. Bacillariophyta. (On counting of some taxonomically significant structural elements of valves in the diatom algae of the family Thalassiosiraceae Lebour emend. Hasle. Bacillariophyta). *Bot. Zurn.* 62 : 448-451.

GENKAL S.I. & KUZMIN G.V., 1979a – Biometricheskiy analiz osnovnih strukturnih elementov stvorok u vidov *Stephanodiscus* Ehr. Bacillariophyta. (Biometric analysis of main structural elements of valves in the species of genus *Stephanodiscus* Ehr.). Bacillariophyta. *Bot. Zurn.* 64 : 1237-1244.

GENKAL S.I. & KUZMIN G.V., 1979b – O novih dlya flori SzSzSzR predstavitelyah roda *Cyclotella* Kütz. Bacillariophyta. (New data on the occurrence of some *Cyclotella* species in U.S.S.R.). *Novosti Sistemat. Nizshih Rastenij* 16 : 3-5.

GENKAL S.I. & MAKAROVA I.V., 1986 – Novie dannie po morfologii pantsirya *Cyclotella caspia*. Bacillariophyta. (New data on the morphology of frustula in *Cyclotella caspia*. Bacillariophyta). *Bot. Zurn.* 71 : 371-374.

GIFFEN M.H., 1963 – Contributions to the diatom flora of South Africa. I. Diatoms of the estuaries of the Eastern Cape Province. *Hydrobiologia* 21 : 201-265.

GRUNOW A., 1878 – Algen und Diatomaceen aus dem Kaspischen Meere. *In* Schneider O., Naturwissenschaftlicher Beitrage zur Kenntnis der Kaukasusländer. *Sitzungsber. Naturw. Ges. «Isis» Dresden*, 1878 : 98-132.

HASLE G.R., 1962 – Three *Cyclotella* species from marine localities studied in the light and electron microscopes. *Nova Hedwigia* 4 : 299-307.

HUSTEDT F., 1930 – Die Kieselalgen Deutschlands. Österreichs und der Schweiz unter Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. *In* : Rabenhorst L. (Ed.), *Kryptogamen-flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* 7 (1). Akad. verlag, Leipzig, 920 p.

JOHANSEN J.R., RUSHFORTH S.R., ORBENDORFER R., FUNGLADA N. & GRIMES J.A., 1983 – The algal flora of selected wet walls in Zion National Park, Utah U.S.A. *Nova Hedwigia* 38 : 765-774.

KISS K.T., 1984a – Changes of trophity conditions in the river Danube at Göd. Danub, Hung. XCIV. *Ann. Univ. Sci. Budapest Sect. Biol.* 24-26 : 47-59.

KISS K.T., 1984b – Occurrence of *Thalassiosira pseudonana* Hasle et Heimdal (Bacillariophyceae) in some rivers of Hungary. *Acta Bot. Hung.* 30 : 277-287.

KISS K.T., 1984c – Special problems in studying phytoplankton associations (occurrence and ecological evaluation of *Hyaloraphidium contortum*). *Acta Bot. Hung.* 30 : 269-276.

KISS K.T., 1986 – Species of Thalassiosiraceae in the Budapest section of the Danube. Comparison of samples collected in 1956-63 and 1979-83. *In* M. Ricard, *Proc. 8th Int. Diatom Symp. Paris Aug. 84*. Koeltz Koenigstein Publ. : 23-31.

LUND J.W.G., KIPLING C. & LE CREN E.D., 1958 – The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11 : 143-170.

NAGUMO T. & KOBAYASI H., 1985 – Fine structure of three freshwater and brackish water species of the genus *Cyclotella* (Bacillariophyceae) *C. atomus, C. caspia* and *C. meduanae*. *Bull. Plankton Soc. Jap.* 32 (2) : 101-109.

NESTEROVA D.A., 1985 – Der Einfluss der Donau auf das Phytoplankton des Schwarzen Meeres. 25. Arbeitstagung der IAD. Bratislava / CSSR : 242-245.

PROSHKINA-LAVRENKO A.I., 1959 – *Cyclotella caspia* Grun. *Bot. Mater. Otd. Sporov.*

Rast. 12 : 69-75.

PROSHKINA-LAVRENKO A.I., 1963 — *Diatomoviye vodorosli planktona Azovskogo morya.* Moskva-Leningrad, Izd.-vo Akad. Nauk SSSR, 190 p.

ROSS R., COX E.J., KARAYEVA N.I., MANN D.G., PADDOCK T.B.B., SIMONSEN R. & SIMS P.A., 1979 — An amended terminology for the siliceous component of the diatom cell. *Nova Hedwigia, Beih.* 64 : 513-533.

SULLIVAN M.J., 1978 — Diatom community structure : Taxonomic and statistical analyses of a Mississipi salt marsh. *J. Phycol.* 14 : 468-475.

SULLIVAN M.J., 1981 — A preliminary checklist of marine benthic diatoms of Mississipi. *Gulf Res. Rep.* 7 : 13-18.

BOTRYOCLADIA GANESANII SP. NOV. (RHODOPHYTA, RHODYMENIALES) FROM THE CARIBBEAN COAST OF VENEZUELA

Mirella APONTE DÍAZ*

ABSTRACT. — A new subtidal species of the genus *Botryocladia* Kylin, *B. ganesanii* Aponte Díaz sp. nov. is described from the upwelling areas of eastern Venezuela. *B. ganesanii* is the eight member of the genus from the Caribbean Sea. In some respects, the newly described species closely resembles *B. guineensis* John, but differs in the (i) number and shape of vesicles, (ii) vesicle structure, (iii) dimensions of gland cells, tetrasporangia and cystocarps, (iv) presence of a tela arachnoidea in the cystocarps and (v) monoecious sexual plants.

RÉSUMÉ. — Une nouvelle espèce du genre *Botryocladia* Kylin, *B. ganesanii* Aponte Díaz sp. nov. est décrite d'une zone à upwelling de l'est du Vénézuela. *B. ganesanii* est la huitième espèce de ce genre dans les Caraïbes. Par certains caractères cette nouvelle espèce présente des similitudes avec *B. guineensis* John, mais elle en diffère par 1) le nombre et la forme des vésicules; 2) la structure des vésicules; 3) les dimensions des cellules secrétrices, des tétrasporocystes et des cystocarpes; 4) la présence d'une tela arachnoidea dans les cystocarpes; 5) sa monoécie. (traduit par la rédaction).

KEY WORDS : *Botryocladia, Botryocladia ganesanii* sp. nov., marine algae, Rhodymeniales, Rhodophyta, Venezuela.

INTRODUCTION

The genus *Botryocladia* Kylin (Rhodophyta, Rhodymeniales) generally a deep water marine alga of the tropical, subtropical and warm temperate seas, is characterized by one to several hollow vesicles borne on a simple or variously branched erect axis. Structurally the vesicle consists of 2-3 or more layers of cells, and the inner most medullary cells in most species produce groups of secretory cells. As a result of these features it is one of the easily recognized genera of marine red algae. Seven species of *Botryocladia* are currently known from the Caribbean Sea (Ballantine, 1985) and the genus so far contains 30 described species (Brodie & Guiry, 1988). While studying the marine algal flora of eastern

* Instituto Oceanográfico, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Venezuela, especially in the upwelling areas of the island of Margarita (11°00' N - 63°47'30" W), a species of *Botryocladia* was collected, which proved to be different from the other described species of the genus.

MATERIALS AND METHODS

All specimens studied were cast ashore, indicating a subtidal habitat. Material was preserved in 4 % formalin seawater and dried as herbarium sheets. Both whole mounts and sectioned material were studied. Sections (30 μm) thick were cut with a freezing microtome. A 1 % aqueous aniline blue solution, to which a few drops of 1 % HCl were added was used as stain. Stained material was mounted in 50 % Karo Syrup. Herbarium specimens and slides have been deposited in the Herbarium, Department of Marine Biology, Institute of Oceanography, Cumaná, Venezuela. Duplicate specimens are also deposited in the Herbarium, University of California, Berkeley, U.S.A., and Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. For comparative studies, herbarium specimens of *Botryocladia guineensis* John, were kindly sent on loan from the British Museum (Natural History), London. In describing the shape of the vesicles and the secretory cells, the glossary of phycological terms of marine macroalgae by Hine (1977) was used.

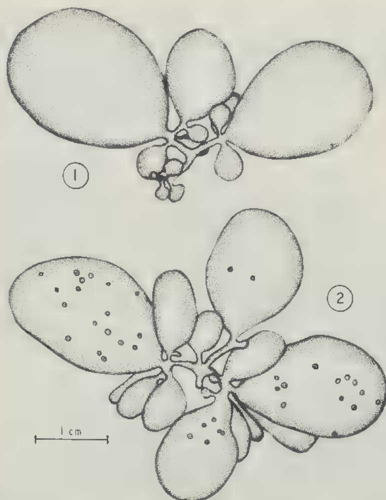
DIAGNOSIS AND OBSERVATIONS

Diagnosis

Botryocladia ganesanii Aponte Diaz sp. nov.

Plantae subtidalae 30-35 mm altae; erectus axis cylindricus 1 mm diam., 2-7mm longus, 7-20 vesiculis ovatis, 10-18 mm diam., 20-25 mm longis; paries vesicularum 129-171 μm crassa, a tribus stratis cellularum constituta est; externum stratum parvis cellulis subsphaericis, sparse dispositis 4-7 (-10) μm diam., intermedium stratum irregulariter compositum, cellulis 8-60 μm diam., et internum stratum polyhaedricis cellulis, 60-300 μm diam., 358-366 μm longum; cellulae glandulosae 6-12(15) conglobatae, ovatae-pyriformae, 5-9 μm diam., 6-10 μm longae, tetrasporangia generaliter ovata, 20 μm diam., 24 (-28) μm longa, irregulariter et indistincte divisa; plantae monoicae; cystocarpia matura sphaerica 700-900 μm diam., moderate projectati; tela arachnoidea in cystocarpii juvenis; spermatangia 1-2 μm diam., in soris irregularibus leviter elevatis super stratum externum vesicularum.

Holotypus : (monoecious), Pampatar (11° 00' N - 63° 47'30" W), Margarita Island, Venezuela. (MA-BV. 45a; 25.ii.1983), in Herbarium Institute of Oceanography, University the Oriente, Cumaná, Venezuela; isotypi : deposited in the Herbarium, Department of Botany, Berkeley, California, U.S.A. (UC) and Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France (PC).

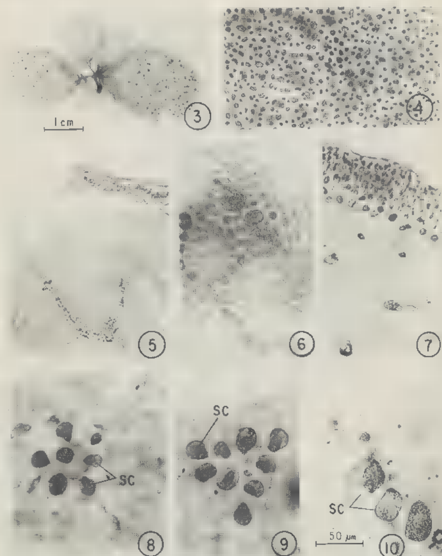


Figs. 1-2. – *Botryocladia ganesanii* sp. nov. 1. Habit of a tetrasporic plant. 2. Habit of a monoecious gametophytic plant.

Observations

Botryocladia ganesanii sp. nov.

Plants of *B. ganesanii* were to 30-35 mm long; each plant consisted of a small discoid base, a short cylindrical erect axis (1 mm broad and 2-7 mm long), which may be divided oppositely, tri- or polychotomously. Each branchlet ended in one to several vesicles of different ages. The number of young and old vesicles varied

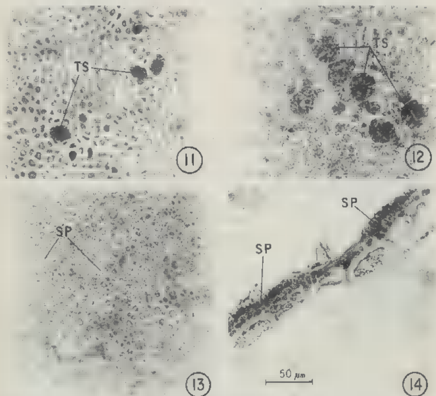


Figs. 3-10. — *Botryocladia ganesanii* sp. nov. 3. Holotype. 4. Surface view of cortical layer in a young vesicle. 5. Section of a mature vesicle. 6. Surface view at the basal part of an old vesicle. The net-like layer of large cells is the intermediate layer, while the cortical layer of small cells is slightly out of focus. 7. Section of an erect axis. 8. Secretory cells from a young vesicle. Note that the medullary cell bearing the secretory cells, stains readily. 9. Secretory cells from an old vesicle. Note the medullary cell does not stain readily. 10. Section of a vesicle showing the secretory cells borne directly on the medullary cell. SC : Secretory cells. Scale fig. 10 also applies to Figs. 4-9.

from 7-20 per plant. Young developing vesicles were spherical while fully developed vesicles were ovoid, 10-18 mm broad and 20-25 mm long (Figs. 1 and 2).

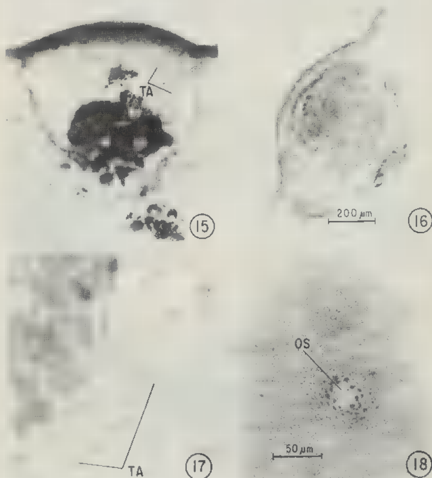
Structurally the erect axis consisted of a narrow peripheral zone of several layers of small subspherical cells and a large central medullary zone of big colourless cells (Fig. 7). Between the large colourless cells, groups of small cells were found interspersed (Fig. 7).

The vesicle consisted of 3 layers of cells both in the young and old vesicles, indicating that the number of layers did not increase with age. The outermost layer constituting the cortex is continuous and is made up of small subspherical pigmented cells, 4-7 (10) μm broad. The disposition of this layer in surface view



Figs. 11, 13, 14. — *Botryocladia ganesanii* sp. nov. 11. Surface view of a tetrasporic plant showing the disposition of tetrasporangia. 13. Surface view of a spermatangial area. 14. Transverse section of a spermatangial area. Note the slightly raised nature of spermatangial area. 12. *B. guineensis* John. Surface view of tetrasporic plant showing the disposition of tetrasporangia. TS: tetrasporangia. SP: spermatangia. Scale in Fig. 14 also applies to Figs. 11-13.

in a young vesicle (3 mm broad) and an old vesicle (12 mm broad) are shown in Figs. 4 and 6, respectively. Formation of hairs from the cortical cells was not observed. The intermediate or middle layer was discontinuous (Fig. 6) and was constituted of polygonal cells 8-60 µm in diameter. The innermost layer con-



Figs. 15-18. — *Botryocladia ganesanii* sp. nov. 15. Transverse section of a developing cystocarp showing its immersed nature and the presence of tela arachnoidea filaments. 16. Transverse section of a mature cystocarp. Note the most part of cystocarp is projecting into the vesicular cavity. 17. Part of a cystocarp enlarged to show the nature of tela arachnoidea filaments. 18. Surface view of an empty cystocarp showing a prominent ostiole. TA : tela arachnoidea. OS : ostiole. Scale in Fig. 16 applies to Fig. 15 and scale in Fig. 18 to Fig. 17.

sisted of a single continuous layer of large colourless cells 60-300 μm in diameter (Figs. 5 and 14). Thickness of the wall of the vesicle varied from 100-200 μm. Groups of secretory cells were commonly observed directly on the face of some medullary cells. In young vesicles, the medullary cells bearing the secretory cells were intensely stained with aniline blue (Fig. 8), but in later stages they were indistinguishable from the surrounding cells (Fig. 9). In the numerous groups of gland cells observed, a subtending or bearing cell was not observed (Fig. 10). Each group consisted of 6-12 (15) pyriform or ovoid secretory cells. Individual gland cells measured (25) 30-45 (50) μm long and 20-35 μm broad.

Tetrasporangia were found scattered in the cortical layer (Fig. 11) in an irregular manner. Division of the contents of mature tetrasporangia was irregular and indistinct. Tetrasporangia were generally ovate, 24-28 μm long and 20 μm broad.

Sexual plants were monoecious (Figs. 2 and 3). Spermatangial areas occurred in the form of small or extensive patches (Fig. 13) among the cortical layer. In section (Fig. 14) the spermatangial layer was slightly raised in the form of an irregular sorus from the adjacent sterile cells. Each spermatangial mother cell produced 1-2 small spermatangia.

Numerous cystocarps occurred scattered irregularly on the vesicle walls (Figs. 2 and 3). There was no regular pattern in their distribution, since they occurred not only a few mm below the apex of the vesicle, but also at the extreme base of the vesicle a few mm above the stipe. In section they measured 700-900 μm broad and 580-800 μm high. In surface view, they reached up to 1 mm in diameter. The cystocarp generally projected more inside the vesicular cavity than outside (Figs. 15 and 16). In young developing cystocarps a tela arachnoidea made up of elongated, loosely packed filaments inside the vesicular cavity was observed (Figs. 15 and 17). Tela arachnoidea filaments were however not abundant. In mature cystocarps, they were not easily distinguishable. Some empty cystocarps showed a distinct ostiole in surface view (Fig. 18).

Holotype ı (monoecious), Pampatar (11° 00' N - 63° 47' 30" W), Margarita Island, Venezuela (MA-BV. 45a; 25.ii.1983), in Herbarium Institute Oceanography, University the Oriente, Cumaná, Venezuela; isotypi : deposited in the Herbarium, Department of Botany, Berkeley, California, U.S.A. (UC) and Muséum National d'Histoire naturelle, Paris, France (PC).

The specific name honours Dr. E.K. Ganesan in recognition of his contributions to the knowledge of the Venezuelan marine algal flora.

DISCUSSION

While describing *Botryocladia ardreana* as new species from Portugal, Brodie & Guiry (1988) recognized 30 species in the genus (including *B. ardreana*). They also evaluated several criteria for the identification of species of the genus and provided a comparative table summarizing the vegetative and reproductive

features of the 30 species. Of these, seven species i. e., *B. monoica* Schnetter (1978), *B. occidentalis* (Børgesen) Kylin (Taylor, 1960), *B. papenfussiana* Ganesan et Lemus (1972), *B. pyriformis* (Børgesen) Kylin (Taylor, 1960), *B. shanksii* Dawson (1962), *B. spinulifera* W.R. Taylor et Abbott (1973) and *B. wynnei* Ballantine (1985) are known to occur in the Caribbean Sea (Wynne, 1986). The vegetative and reproductive characteristics of the Caribbean species were summarized by Ballantine (1985).

Botryocladia ganesanii sp. nov. is different from the seven Caribbean members in the following features. *B. monoica* and *B. papenfussiana* have incomplete cortication of the vesicles, while *B. occidentalis* and *B. shanksii* are large plants (70-200 mm long) with numerous small vesicles that range in size from 2,5-5 mm in diameter. *B. spinulifera* is unique in possessing spinous projections on the surface of the vesicles. *B. pyriformis* has vesicles that are generally 4-9 mm in length (rarely up to 50 mm) with only 2 layers of cells and is presumed to be dioecious, since only one male plant had been reported so far (Ballantine, 1985, p. 202).

Among the non-Caribbean species, *B. ganesanii* sp. nov. showed a very close similarity in external appearance to *B. guineensis* John (1972) described from tropical west Africa (Ghana). However, structurally and reproductively, there are several differences, which merit recognition of the Venezuelan plants as a new species. *Botryocladia guineensis* has 2-6 (10) spherical to elongate pyriform vesicles, while *B. ganesanii* has 7-20 ovoid vesicles. Brodie and Guiry (1988) showed that the vesicle shape may vary with reproductive state and under certain environmental conditions like temperature and irradiance, but that the number of layers in the vesicle is a constant feature and is apparently of specific value. *B. guineensis* has 3-5 layers (John, 1972) or 4 layers (Lawson & John, 1982). But *B. ganesanii* has only 3 layers both in the young and old vesicles. This prominent structural difference is due to the fact that *B. guineensis* has 2 layers of large colourless medullary cells (John, 1972, fig. 4), while in *B. ganesanii* the medulla is made up of only a single layer of large colourless cells (Figs. 5 and 14).

According to Brodie & Guiry (1988), the number, size and position of secretory cells are of principal importance in the species distinction of the genus *Botryocladia*. *Botryocladia guineensis* has 4-8 (12) spherical to pyriform gland cells, generally 11-33 µm in length (average 20 µm) and 10-25 µm broad. *B. ganesanii* has 6-12 (15) ovoid - pyriform secretory cells, which are (25) 30-45 (50) µm long and 20-35 µm broad. In both species, they arise directly on the medullary cells without a bearing cell. However, in *B. ganesanii*, the medullary cells bearing developing secretory cells stain more readily in the early stages of development (Fig. 8) and stand out distinctly from the surrounding cells. In later stages however, their identity is lost (Fig. 9).

In both *B. guineensis* and *B. ganesanii* the cortical layer is complete. But the arrangement and cell size are different both in the sterile and reproductive areas in the two species. In *B. guineensis* cortical cells are large and closely

packed (Fig. 12), while in *B. ganesanii* they are small and loosely arranged (Fig. 11). Tetrasporangia of *B. guineensis* are ovoid 22-33 μm long and 16-22 μm broad (John, 1972), while those of *B. ganesanii* are ovate but smaller, up to 24 (28) μm long and 20 μm broad. Fig. 11, 12 which respectively show cortical cell arrangement and tetrasporangia in *B. ganesanii* and *B. guineensis*, have the same magnification.

The Venezuelan plants are monoecious, while *B. guineensis* is presumed to be dioecious, since only female plants have been reported (John, 1972). I also carefully examined some type female plants of *B. guineensis* and these did not show any spermatangial areas. It should however be pointed out that in some species like *B. wynnei*, male and female reproductive structures do not develop at the same time, the cystocarps developing first (Ballantine, 1985). Additional collections and study of *B. guineensis* are necessary to clarify whether this species is dioecious or behaves like *B. wynnei*. A tela arachnoidea was present in *B. ganesanii*, but such a feature was not described for *B. guineensis*. Brodie & Guiry (1988) described the presence of a tela arachnoidea for the first time in *B. ardreana*, considering it anomalous. These authors stated that other species of *Botryocladia* should be examined for the presence of a tela arachnoidea. In the Venezuelan material it was especially evident in developing cystocarps and indistinguishable in mature cystocarps.

Attention should also be called to the fact that in certain species of *Botryocladia* specific delimitations are still not clear, particularly in species occurring on the two sides of the warm waters of the Atlantic. Dr. Paul Silva and Dr. Richard Moe (pers. comm.) pointed out that in *Botryocladia* there exist vicarious pairs, which include *B. papenfussiana* and *B. lawsonii*, *B. occidentalis* and *B. botryoides*, *B. senegalensis* and *B. monoica* and perhaps *B. guineensis* and *B. ganesanii*. The differences between these vicarious pairs, according to them, might be the result of geographically correlated modifications. Until comparative critical culture studies are made on these vicarious pairs to know how stable these differences represent specifically, it is uncertain if the latter names of these pairs represent true species or only varieties or even less taxonomically.

ACKNOWLEDGEMENTS

Grateful thanks are extended to Dr. E.K. Ganesan for guiding this research and for his help in the preparation of this paper. I am also thankful to Dr. John A. West, Dr. Paul Silva, Dr. Richard Moe and Prof. W.R. Taylor for their comments on the identity of the Venezuelan plants, to Dr. Michael Guiry for generously providing me a copy of a manuscript in press on *Botryocladia ardreana* and to the British Museum (Natural History) London for sending on loan herbarium specimens of *B. guineensis*. I am also thankful to CONICIT for financial support, to Prof. Alfonso Bastidas for the Latin diagnosis, to Lic. Beatríz Vera V. for help in field work and to Mr. Ramón Vargas for the photographic assistance.

REFERENCES

BALLANTINE D.L., 1985 — *Botryocladia wynnei* sp. nov. and *B. spinulifera* (Rhodymeniales, Rhodophyta) Taylor & Abbott from Puerto Rico. *Phycologia* 24 : 199-204.

BRODIE J. & GUIRY M.D., 1988 — Life history and reproduction of *Botryocladia ardreana* sp. nov. (Rhodophyta, Rhodymeniales) from Portugal. *Phycologia* 27 (In Press).

DAWSON E.Y., 1962 — Additions to the marine flora of Costa Rica and Nicaragua. *Pac. Nat.* 3 : 375-395.

GANESAN E.K. & LEMUS A.J., 1972 — Studies on the marine algal flora of Venezuela. IV. *Botryocladia papenfussiana* sp. nov. (Rhodophyceae, Rhodymeniales). *Phycologia* 11 : 25-31.

JOHN D.M., 1972 — A new species of *Botryocladia* (Rhodophyceae, Rhodymeniales) from the Gulf of Guinea. *Phycologia* 11 : 33-36.

HINE A.E., 1977 — *A glossary of phycological terms for students of marine macroalgae.* St. Alden's in the weeds, 91 p., 82 figs.

KYLIN H., 1931 — Die Floridieenordnung Rhodymeniales. *Lunds Univ. Årsskr.* N. F. Avd. 2, 27 (11) : 1-48, 20 pls.

LAWSON G.W. & JOHN D.M., 1982 — The marine algae and coastal environment of tropical west Africa. *Beihefte Nova Hedwigia* 70, 455 p.

SCHNETTER R., 1978 — *Botryocladia monoica* (Rhodymeniales, Rhodophyceae), a new species from the Caribbean coast of Colombia. *Phycologia* 17 : 13-15.

TAYLOR W.R., 1960 — *Marine Algae of the eastern tropical and subtropical coast of the Americas.* Ann Arbor, Mich., Univ. of Michigan Press, ix + 870 p.

TAYLOR W.R. & ABBOTT I.A., 1973 — A new species of *Botryocladia* from the West Indies. *Brit. Phycol. J.* 8 : 409-412.

WYNNE M.J., 1986 — A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic. *Canad. J. Bot.* 64 : 2239-2281.

NOTES ON *BRANCHIOGLOSSUM* KYLIN (DELESSERIACEAE, RHODOPHYTA) IN THE EASTERN PACIFIC

Michael J. WYNNE*

ABSTRACT. — Evidence is presented to demonstrate that *Branchioglossum bipinnatifidum* (Mont.) Wynne (hitherto known only from Chile), *B. woodii* (J. Ag.) Kyl. (hitherto thought to have a bipolar distribution, *viz.*, Chile and Pacific North America), and *B. brattstroemii* Levr. (hitherto known only from Chile) represent a single species exhibiting a range of morphological variation in respect to thallus height and blade width. The correct name for this taxon and of the type for the genus is *B. bipinnatifidum*. *Branchioglossum undulatum* Daws., occurring from southern California to Baja California and the Gulf of California, is maintained as a separate species.

RÉSUMÉ. — Il est démontré que *Branchioglossum bipinnatifidum* (Mont.) Wynne (connu jusqu'ici seulement du Chili), *B. woodii* (J. Ag.) Kyl. (dont on pensait jusqu'ici que sa distribution était bipolaire, c'est-à-dire du Chili et du Pacifique de l'Amérique du Nord), et *B. brattstroemii* Levr. (connu jusqu'ici du Chili) ne constituent qu'une seule espèce présentant une série de variations morphologiques en ce qui concerne la longueur du thalle et la largeur de la lame. Le nom exacte de ce taxon et du type du genre est *B. bipinnatifidum*. *Branchioglossum undulatum* Daws., qui se rencontre du sud de la Californie à la Basse Californie et dans le Golfe de Californie, est maintenu comme une espèce distincte. (traduit par la rédaction).

KEY WORDS : *Branchioglossum, B. pinnatifidum, B. brattstroemii, B. undulatum, B. woodii*, Delesseriaceae, eastern Pacific, Rhodophyta.

INTRODUCTION

Branchioglossum, a genus of the red algal family Delesseriaceae, was described by Kylin (1924) and based on the type *B. woodii* (J. Ag.) Kyl., originally known from Vancouver Island, Canada. The genus is currently recognized to contain about 10 species (Ballantine & Wynne, 1987). The diagnostic characteristics of *Branchioglossum* include the following : flattened blades with apical organization of the Hypoglossum type (Kylin, 1924), that is, with all tertiary initials

* Herbarium and Department of Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109-1048, U.S.A.

reaching the blade margin; blades essentially monostromatic, except for the midrib region; no lateral veins; branches developing from the blade margins, usually by the outgrowth of secondary initials by their transformation into primary (= indeterminate) initials (Wagner, 1954); and the production of tetrasporangia in two or more layers of the blade.

	Original description	Figures of holotype	Type locality
B. bipinnatifidum (Basionym: Delesseria bipinnatifida)	Montagne, 1837, p. 355 (Montagne, 1839/1847, pl. VI, fig. 1)	Fig. 1; Mikami, 1979, fig. [illegible]	Valparaiso, Chile
B. woodii (Basionym: Delesseria woodii)	J. Agardh, 1872, p. 54	Kylin, 1941, pl. 10, fig. 25	Vancouver Is., Canada
B. macdougalii	Gardner, 1927, p. 103	Gardner, 1927, pl. 20, fig. 4; pls. 33, 34	Libertad, Mexico
B. undulatum	Dawson, 1949, p. 17	Dawson, 1949, figs. 39-42	Santa Rosa, Is., California
B. brattstroemii	Levring, 1960, p. 65	Levring, 1960, fig. 6	Golfo de Ancud, Chile

Table I. — Data on *Branchioglossum* spp. described from the eastern Pacific.

Five species occurring in the eastern Pacific (on the coasts of North and South America) have been assigned to *Branchioglossum* (Table I). In a review of the literature it is evident that our knowledge of these species has often been based on a small number of specimens and has not taken into account possible morphological variation. It is also evident that confusion exists in regard to the relationship between species from North and South America.

The North American distribution of *Branchioglossum woodii* ranges from northern British Columbia, Canada, southward to Baja California and the Gulf of California, Mexico (Abbott & Hollenberg, 1976; Hawkes *et al.*, 1979). Gardner (1927) described *B. macdougalii* from Mexico, based on a single collection of a few sterile specimens. Dawson (1962) placed that species in the taxonomic synonymy of *B. woodii*, a judgement accepted by Abbott & Hollenberg (1976).

Dawson (1949) described *Branchioglossum undulatum* from Santa Rosa Is., California, and its distribution has been subsequently reported to include southern California, Baja California, and the Gulf of California (Dawson, 1962; Abbott & Hollenberg, 1976). This species has been distinguished from *B. woodii*

by its broad, undulate blades with obtuse apices and its rostrate cystocarps with strongly flared ostioles (Dawson, 1949).

Levring (1960) described *Branchioglossum brattstroemii* from the Golfo de Ancud, Chile, which had been collected by the Lund University Chile Expedition in 1948. Although the description was based on a single specimen, Levring was easily able to assign it to *Branchioglossum*, noting that the cells near the blade tips were «arranged in diagrammatic regularity». He also pointed out some resemblance to *B. woodii*. Santelices & Abbott (1978) reported the distribution of *B. brattstroemii* in Chile to range approximately from 30°S to 42°S. In a subsequent treatment Ramirez & Santelices (1981) made no reference to *B. brattstroemii* but stated that *B. woodii* has a bipolar distribution, occurring from British Columbia to Baja California in its northern hemisphere distribution and along the central coast of Chile in its southern hemisphere range.

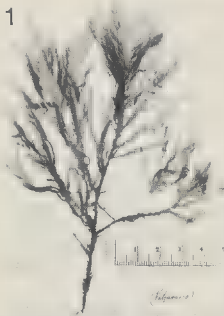
In a careful examination of type material and recent collections of *Erythroglossum bipinnatifidum* (Mont.) Kyl., based on Montagne's (1837) *Delesseria bipinnatifida* from Valparaiso, Chile, Mikami (1979) observed that this alga conformed to the genus *Branchioglossum*. The transfer to *Branchioglossum* was subsequently made by Wynne (1983). Etcheverry (1986) has recently recognized both *Branchioglossum brattstroemii* and *Erythroglossum bipinnatifidum* in the Chilean flora.

The fact that *Branchioglossum woodii* has been depicted as having a bipolar distribution by Ramirez & Santelices (1981) raises questions : What is the relationship of *B. woodii* to *B. bipinnatifidum* ? Are these two taxa possibly conspecific ? The status of the other species involved, namely, *B. brattstroemii* and *B. undulatum*, also needs to be clarified. Collections of *Brachioglossum* made by the author from the Pacific coast of North America and made by Dr. R.B. Searles from the coast of Chile facilitated a reinvestigation of the genus and of the relationship between the populations occurring in these two geographically separated regions.

MATERIALS AND METHODS

The North American collections examined were preserved as herbarium specimens and/or preserved in 5 % formalin/sea water, whereas all of the Chilean specimens examined had been preserved in 5 % formalin/sea water. For microscopic study material was mounted in a mixture of 50 % liquid glucose (Karo Syrup) containing a few drops of 1 % aniline blue and acidified with a few drops of 1 N HCl. Photomicrographs were taken both with a camera-back mounted on a Zeiss research microscope or with a camera mounted on a Nikon SMZ-10 stereomicroscope.

The holotype of *Delesseria bipinnatifida* Mont. (in PC; Fig. 1) and specimens in TCD and LD (no. 31383 in Agardhian Herb.) were examined at these herbaria. The holotype of *Branchioglossum undulatum* Daws. was received on loan from AHFH, the Chilean material was received on loan from DUKE, and the


1
1 2 3 4 5


2


3





remaining material used in this study is deposited in MICH. The symbols used for herbaria are taken from Holmgren *et al.* (1981).

The following North American specimens examined in this study are in MICH, and the Chilean specimens are in DUKE :

CANADA. British Columbia. Vancouver Island, Whiffin Spit, Sooke : 1.vii. 1969, R. Norris 5893 (tetrasporic).

USA. Washington. San Juan County, San Juan Island, Lime Kiln Light : 18.vii. 1978, Wynne 4919 (tetrasporic); 17.vii.1978, Wynne 4995 (*leg.* D. Perkins) (tetrasporic). California. Monterey County, Pacific Grove, Mussel Point : 29.vii.1941, G.M. Smith 41-419B (tetrasporic). Monterey Harbor : 21.vii. 1965, I. Abbott 3772b (female, male).

MEXICO. Sonora. Ensenada de San Francisco : 12.vi.1952, Dawson 10996 (tetrasporic). Puerto Peñasco, Station Beach : 25.xii.1972, Wynne 3729; 27.xii.1972, Wynne 3769 (tetrasporic). Bahia Kino : 2.i.1973, Wynne 3870 (tetrasporic).

CHILE. SW of Isla May, near Puerto Alert (49°52.5'S, 75°14.4'W) : 31.x.1972, Searles 72-21-21 (male). Puerto Albert (49°49.7'S, 75°16.5'W) : 1.xi.1972, Searles 72-22-3 (male, tetrasporic). Isla Waller, Gulfo de Peñas (46°48.3'S, 75°11.8'W) : Searles 72-46-15. Isla Tres Dedos (45°18.9'S, 74°34.3'W) : 12.xi.1972, Searles 72-50-26 (tetrasporic). Grupo Smith, Canal Darwin (45° 25.5'S, 74°05.5'W) : 16.xi.1972, Searles 72-59-41. Canal Drawin (45°24.5'S, 74°03.5'W) : 24.v.1973, Searles 73-55-31 (tetrasporic). Small island E. of Isla Refugio (43°54.6'S, 73°06.6'W : 18.xi.1972, Searles 72-63-3. Canal Puquitin (43°50.1'S, 73°47.0'W) : 19.xi.1972, Searles 72-68-14 (male, female, tetrasporic); 20.xi.1972, Searles 72-70-23 (tetrasporic).

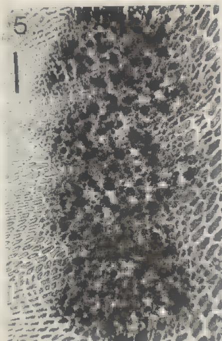
OBSERVATIONS

Examination of Lectotype of *Delesseria bipinnatifida* Mont.

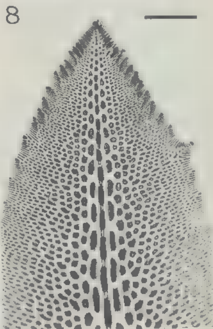
Some of the confusion in regard to the interpretation of this taxon has become clarified by an examination of the lectotype and other specimens in the original d'Orbigny collection from Valparaiso. It turns out that this original collection contains a mixture of superficially similar entities, one *Branchioglossum* and the other *Erythroglossum*. The lectotype in PC (Fig. 1), so designated by Mikami (1979), indeed conforms to *Branchioglossum* in its apical organization, and I confirm Mikami's determination. In addition to the lecto-

---

Figs. 1-4 : *Branchioglossum bipinnatifidum*. Chilean collections. — Fig. 1. Holotype of *Delesseria bipinnatifida* in PC. Fig. 2. Blade apex. Fig. 3. Tetrasporic thallus. Fig. 4. Young tetrasporangia. Figs. 2 & 4, Searles 72-22-3; Fig. 3, Searles 72-68-14. Scale bars : 50 µm in fig. 2; 1 mm in fig. 3; 100 µm in fig. 4.


5

6

7

8

type specimen there is a second specimen on the same sheet with the same data, and it also is *Branchioglossum*. Also on this sheet is a packet containing some cards with specimens conforming to *Erythroglossum*; these are marked «*Delesseria bipinnatifida* Chile» but without the name of the collector. In TCD and LD there are d'Orbigny specimens conforming to *Erythroglossum*. It is understandable then why Kylin (1924, fig. 22e) depicted the apex of this taxon as conforming to *Erythroglossum*, since he based the figure on the specimen available to him in LD.

Examination of Chilean specimens

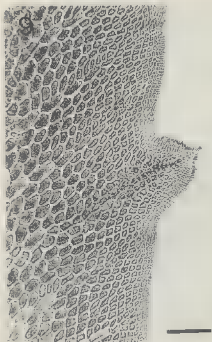
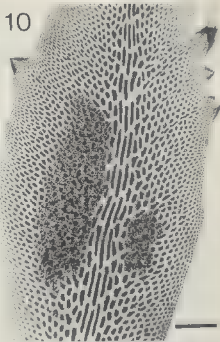
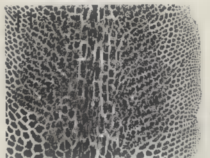
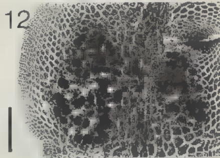
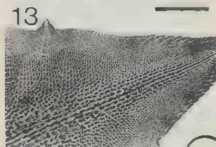
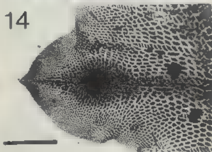
The Chilean specimens available in this study showed a wide range of thallus height, from 1 cm to about 10 cm, and a blade width of 1.5-4.0 mm. Branching was to 3 or 4 orders. Apical organization conforms to the Hypoglossum type, in which all tertiary initials reach the blade margin (Fig. 2). All cells of 2nd-order rows bear 3rd-order rows. Cells in the vicinity of the midline of the axis undergo periclinal and anticlinal divisions; these products of division then undergo elongation and contribute to the development of the midrib (Fig. 4).

Blade margins were at times entire but could appear moderately dentate on account of emergence of marginal branches. Branching in *Branchioglossum* is brought about by the conversion of a secondary initial into a primary initial, the new bladelet growing outward from the margin of the parent blade. Along a given blade margin there may be various stages in the production of new branches, with more advanced stages at times being distal to younger stages. This random sequence results in a dentate aspect.

In one collection (Searles 72-68-14), all reproductive stages were present, with separate tetrasporic, male, and female thalli. Tetrasporic specimens bear sori on ultimate and penultimate branches (Fig. 3). Sori occur on both sides of the midrib and are arranged as continuous or interrupted zones, not encroaching on the midribs nor the blade margins. Sporangia are cut off from cortical cells, basically forming two layers of sporangia. Although the initial tetrasporangial arrangement appears orderly (Fig. 4), tetrasporangia are more irregularly arranged as the sorus matures (Fig. 5). Mature tetrasporangia ranged from 24-52 µm in diam.

Spermatangial sori were very similar to tetrasporangial ones in their arrangement in that they occurred on both ultimate and penultimate branches and produced both long, continuous or interrupted zones on both sides of the midrib (Fig. 6). Female plants likewise bore cystocarps on both ultimate and penul-

Fig. 5-8 : *Branchioglossum bipinnatifidum*. — Figs. 5-7, Chilean collections (Searles 72-68-14). Fig. 8, North American collection (Wynne 3769). Fig. 5. Sorus with mature tetrasporangia. Fig. 6. Male thallus. Fig. 7. Female thallus. Fig. 8. Blade apex. Scale bars : 100 µm in figs. 5 & 6; 500 µm in fig. 7; 50 µm in fig. 8.


9

10


12

13

14


timate branches (Fig. 7 & 14). Up to as many as three maturing cystocarps could be present along the midrib of a single blade.

Examination of North American specimens

The average height of the North American specimens observed was 2.5-3.0 cm. Blade width ranged from 1.5 to 3.0 mm, 2.0 mm being the typical blade width. Apices showed a Hypoglossum type of organization (Fig. 8). Blade margins were generally entire but could also be somewhat dentate because of the emergence of bladelets (Figs. 9 & 10). Blades were costate, the degree of cortication usually being pronounced but at times weakly expressed.

Almost all of the North American collections contained tetrasporic specimens. Tetrasporangial sori were located on both ultimate and penultimate branches and were present as a pair of broad, linear zones paralleling the midrib (Fig. 10). Sori may be arranged either in continuous or irregularly interrupted patches. Young sporangia appeared to be regularly arranged in the sori (Fig. 11), but this regularity was lost as the sporangia matured (Fig. 12). The mature, tetrahedrally divided tetrasporangia are 30-46 µm in diam. One female collection was observed. The thallus bore cystocarps on both ultimate and penultimate branches.

Examination of the Holotype of *Branchioglossum undulatum* Daws.

Present observations of the holotype of *B. undulatum* are in essential agreement with Dawson's (1949) account for this species. Blades have undulating margins and well developed midribs and are up to 5 mm broad. The blades terminate in obtuse apices. Otherwise, the apical organization is in general agreement with the other *Branchioglossum* collections examined, i. e., all tertiary initials reach the blade margin and all cells of 2nd-order rows bear thrid-order rows.

DISCUSSION

The alleged overlapping geographic distributions in Chile of *Branchioglossum woodii*, *B. bipinnatifidum*, and *B. battstroemii* stimulated this investigation of these related species. In J. Agardh's (1876) treatment of *Delesseria*, *D. bipinnati-*

Figs. 9-14 : *Branchioglossum bipinnatifidum*. Figs. 9-12, North American collections. Figs. 13 & 14, Chilean collections. Fig. 9, Emergence of marginal branch. Fig. 10. Tetrasporic thallus with marginal dentations. Fig. 11. Young tetrasporangia. Fig. 12. Mature tetrasporangia . Fig. 13. Emergence of marginal branch. Fig. 14. Young cystocarp located on midline of bladelet. Fig. 9, Abbott 3772b. Fig. 10, Wynne 3769. Figs. 11 & 12, Wynne 4995. Fig. 13 & 14, Searles 72-68-14. Scale bars : 70 µm in fig. 9; 100 µm in figs. 10-12; 200 µm in figs. 13 & 14.

fida and *D. woodii*[1] appeared alongside each other, and their descriptions started out identically : «fronde costata, lineari pinnatifide ramosa». Agardh referred to thalli of *D. woodii* as having entire margins with sori occupying the median portions of major segments and lying on opposite sides of the midrib, whereas he referred to thalli of *D. bipinnatifida* as having subdentate to serrate margins with sori in small marginal expanded bladelets. It is to be reiterated that the specimen of *D. bipinnatifida* in LD is an *Erythroglossum*, not a *Branchioglossum*.

It would also appear from the literature that the stature of thalli of *B. pinnatifidum* is greater than that of *B. woodii*. These differences have up to now been based on relatively few observations, and so the availability of many collections from both Pacific North and South America has permitted a more thorough investigation of the taxonomic problems posed in the Introduction.

Montagne's (1839/1847) original depiction of the habit of *Delesseria bipinnatifida* revealed a narrowly foliose alga, which was costate and with tripinnately divided blades (Fig. 1).. He reported a height of about 15 cm. More recently Mikami (1979) reported Chilean specimens as being 13-18 cm tall and individual blades as 4-8 mm wide. Kylin (1941) stated that Californian specimens of *B. woodii* were more richly branched than the type specimen in the Agardhian Herbarium but that anatomically they were all in agreement. Smith (1944) gave a thallus height of up to 7 cm for specimens from Monterey, California.

As presented in the Observations, a considerable range in thallus height is apparent in the many South and North American collections examined in the present study. Although some of the Chilean specimens can be relatively robust, others are of much reduced height but otherwise are in morphological agreement. Thus, it is concluded that height cannot be used as a reliable means of distinguishing the North American from the South American specimens. Along similar lines, a comparison of the manner in which tetrasporangial sori are borne demonstrated that these sori are produced both on final-order bladelets and on the lower-order blades bearing these bladelets. This same feature was similarly true of the spermatangial and cystocarpic plants, which bore their reproductive structures on both ultimate and penultimate blades in both North and South American specimens.

The extensive morphological variation manifest in the many North and South American specimens examined has led me to conclude that thallus height, blade margin (entire vs. dentate), and location of tetrasporangial sori do not serve as sufficiently reliable criteria to distinguish *Branchioglossum bipinnatifidum* from *B. woodii*. The latter species is thus regarded as a taxonomic synonym of *B. bipinnatifidum*.

1. Subsequently Agardh (1898) transferred both species to his new genus *Erythroglossum* along with three other species, without designating a type. Although Kylin (1956) designated *E. bipinnatifidum* as lectotype of the genus, Wynne (1983) pointed out that Kylin (1924) had earlier designated *E. schousboei* (J. Ag.) J. Ag. as lectotype, and that lectotypification must be followed. Athanasiadis (1985) has more recently presented reasons for the conspecificity of *E. schousboei* and *E. sandrianum* (Kütz.) Kylin, the latter name having priority.

On the basis of a single specimen Levring (1960) described the thallus of *Branchioglossum brattstroemii* to have a height of 7 cm and a width of 5-7 mm, the lateral branches being 2-4 mm wide. Blades had acute apices, were costate, and bore linear tetrasporangial sori paralleling the midrib. Levring's characterization of the blade tips as having cells «arranged in diagrammatic regularity» is similar to Dawson's (1962) later description of *B. woodii* in which the «cells near branch tips were arranged with graphic regularity». It is not possible to distinguish *B. brattstroemii* from *B. pinnatifidum* (including *B. woodii*).

Finally, in regard to the remaining taxon, *Branchioglossum undulatum* Daws., the present examination of the holotype has confirmed Dawson's (1949) description of this alga as having blades with crisped or undulate margins and with broadly obtuse apices. Although it was not possible to visualize the rostrate nature of the pericarp over the cystocarps, owing to the pressed condition of the specimen, it seems reasonable to maintain *B. undulatum* as a distinct species, co-occurring with *B. bipinnatifidum* in southern California and Mexico.

ACKNOWLEDGEMENTS

I acknowledge financial support from National Science Foundation research grant BSR-8516669. I wish to thank Dr. R.B. Searles of Duke University for the loan of his collections of *Branchioglossum* made in connection with his NSF grant (GV 31766) utilizing facilities of R/V «*Hero*». Ms. V.L. Anderson of the Allan Hancock Foundation Herbarium kindly loaned me the type of *Branchioglossum undulatum*. Thanks are also extended to Drs. F. Ardré (Paris), and P. Lassen (Lund) for their assistance during my visits to their herbaria. I appreciate the helpful review made by Dr. C.W. Schneider.

BILBIOGRAPHY

ABBOTT I.A. & HOLLENBERG G.J., 1976 — *Marine Algae of California*. Stanford Univ. Press, Stanford, xii + 827 p.

AGARDH J.G., 1872 — *Bidrag till Florideernes Systematik. Lunds Univ. Årsskr.* Afd. 2, 8 (6) : [1] + 60.

AGARDH J.G., 1876 — *Species genera et ordines algarum...* Vol. 3 (1). *Epicrisis systematis floridearum*. Lund, vii + 724 p.

AGARDH J.G., 1898 — *Species genera et ordines algarum...* Vol. 3 (3). *De dispositione delesseriearum...* Lund, [3] + 239 p.

ATHANASIADIS A., 1985 — North Aegean marine algae. I. New records and observations from the Sithonia Peninsula, Greece. *Bot. Mar.* 28 : 453-468.

BALLANTINE D.L. & WYNNE M.J., 1987 — Notes on the marine algae of Puerto Rico. III. *Branchioglossum pseudoprostratum* new species and *B. prostratum* Schneider (Rhodophyta : Delesseriaceae). *Bull. Mar. Sci.* 40 : 240-245.

DAWSON E.Y., 1949 — Contributions toward a marine flora of the southern California Channel Islands, I-III. *Allan Hancock Found. Publ., Occas. Pap.* No. 8 : 1-57.

DAWSON E.Y., 1962 — Marine red algae of Pacific Mexico. Part 7. Ceramiales : Ceramiaceae, Delesseriaceae. *Allan Hancock Pacific Exped.* 26 : 1-207.

ETCHEVERRY D.H., 1986 — *Algas Marinas Bentonicas de Chile*. Unesco. Oficina Regional de Ciencia y Tecnologia de la Unesco para América Latina y el Caribe, Montevideo, 379 p.

GARDNER N.L., 1927 — New Rhodophyceae from the Pacific coast of North America. VI. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 14 : 99-138.

HAWKES M.W., TANNER C.E. & LEBEDNIK P.A., 1979 — The benthic marine algae of northern British Columbia. *Syesis* 11 : 81-115.

HOLMGREN P.K., KEUKEN W. & SCHOFIELD E.K., 1981 — *Index Herbariorum*. Part 1. *The Herbaria of the World*. Ed. 7. Bohn, Scheltema & Holkema. Utrecht. (*Regnum Vegetabile* vol. 106).

KYLIN H., 1924 — Studien über die Delesseriaceen. *Lunds Univ. Årsskr.* N.F. Avd. 2, 20 (6) : 1-111.

KYLIN H., 1941 - Californische Rhodophyceen. *Lunds Univ. Årsskr.* N.F. Avd. 2, 37 (2) : 1-51, 13 pls.

KYLIN H., 1956 — *Die Gattungen der Rhodophyceen.* Gleerups, Lund, xv + 673 p.

LEVRING T., 1960 — Contributions to the marine algal flora of Chile. *Lunds Univ. Årssk.* N. F. Avd. 2, 56 : 1-83.

MIKAMI H., 1979 — On *Erythroglossum bipinnatifidum* (Rhodophyceae, Delesseriaceae) from Chile. *Jap. J. Phycol.* 27 : 35-38.

MONTAGNE (J.F.) C., 1837 — Centurie de plantes cellulaires exotiques nouvelles. *Ann. Sci. Nat.*, Paris, Ser. 2, 8 : 345-370.

MONTAGNE (J.F.) C., 1839, 1847 — Cryptogamie. Voyage dans l'Amérique méridionale par M. Alcide d'Orbigny. Vol. VII. Botanique, Sertum Patagonicum et Florula Boliviensis (1839). Vol. VIII. Atlas, pls. 1-7 (1847). Paris.

RAMÍREZ M.E. & SANTELICES B., 1981 — Analisis biogeografico de la flora algologica de Antifagasta (norte de Chile). *Bol. Mus. Nac. Hist. Nat. Chile* 38 : 5-20.

SANTELICES B. & ABBOTT I.A., 1978 — New records of marine algae from Chile and their effect on phytogeography. *Phycologia* 17 : 213-222.

SMITH G.M., 1944 — *Marine Algae of the Monterey Peninsula, California.* Stanford Univ. Press, Stanford, ix + 622 p.

WAGNER F.S., 1954 — Contributions to the morphology of the Delesseriaceae. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 27 : 279-346.

WYNNE M.J., 1983 — The current status of genera in the Delesseriaceae (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 26 : 437-450.

CYTOTAXONOMICAL STUDY OF SOME MEMBERS OF *CHARA FIBROSA* COMPLEX

Samit RAY* and Probir CHATTERJEE**

ABSTRACT. – Four taxa namely, *Chara fibrosa* var. and f. *fibrosa* (n = 42), *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* (n = 42), *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* (n = 42) and *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys* (n = 14), belonging to the *C. fibrosa* complex of Wood have been worked out using a technique standardised in this laboratory. Karyogram constructed for each taxon shows a general homogeneity among them and justifies their inclusion under a single species complex as proposed by Wood, excepting *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys*, the karyotype of which appears to be quite distinct from other taxa of the *C. fibrosa* complex studied in this paper and may be considered as a distinct species. Total form percent (TF%) value calculated ranges from 33.33 to 37.56, confirming their position in between primitive ecorticated and advanced corticated triplostichous taxa. The chromosome number of *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* (n = 42) is determined for the first time and that of *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* (n = 42) represent a new polyploid number not reported earlier by any worker.

RÉSUMÉ. – Quatre taxons, *Chara fibrosa* var. et f. *fibrosa* (n = 42), *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* (n = 42), *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* (n = 42) et *C. fibrosa* var. et f. *hydropitys* (n=14), appartenant au complexe spécifique *C. fibrosa* de Wood ont été étudiés au point de vue cytologique. Les détails de leurs caryotypes ont été précisés en utilisant une technique mise au point dans ce laboratoire. Les caryogrammes construits pour chaque taxon offrent une certaine homogénéité entre eux et justifient que les taxons soient inclus dans un seul complexe spécifique comme Wood l'a proposé, à l'exception de *C. fibrosa* var. et f. *hydropitys*, dont le caryotype semble être très différent des autres taxons du complexe *C. fibrosa* étudiés dans ce travail, et qui peut être considéré comme une espèce distincte. La valeur TF% (total form percent) calculée s'élève de 33,33 à 37,56, confirmant leur position entre les taxons primitifs écortiqués et les taxons triplostiques cortiqués évolués. Le nombre chromosomique de *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* (n = 42) est déterminé pour la première fois; celui de *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* (n = 42) représente un nouveau nombre polyploïde non signalé antérieurement par un chercheur. (traduit par la rédaction).

KEY WORDS : karyotype, *Chara*, cytotaxonomy.

* Department of Botany, Visva-Bharati University, Santiniketan 731 235, Birbhum, India.

** Centre of Advanced Study (Cell and Chromosome Research), Department of Botany, University of Calcutta, Calcutta-700019, India.

INTRODUCTION

Chara fibrosa of Wood (1962) represents a species complex comprising of a large number of species and varieties which were considered by classical authors like Sundaralingam (1959), Pal *et al.* (1962) as distinct species. *C. benthamii*, *C. flaccida* and *C. gymnopitys* were considered as distinct species, while Wood (1962) and Wood & Imahori (1965) relegated all these species under a single species *C. fibrosa*. The characters which were used to distinguished between the three species mentioned above, are stipulodes and branchlet number and colouration of oospores. However, intermediate characters are often exhibited by the members of *C. fibrosa* complex and thus a clearcut demarcation between these three species is often very difficult to make. The present investigation was undertaken to analyse the karyotype of different members of *C. fibrosa* complex growing in West Bengal in order to gain some insight into the validity of such an amalgamation in the light of karyotype data gathered by us. This investigation is important to ascertain the position of different members of this species complex in the evolutionary hierarchy.

MATERIAL AND METHOD

Chromosome preparations for studying karyotypic details were prepared from actively growing cells of antheridial filaments. The detailed methodology was essentially the same as standardised by Ray & Chatterjee (1986). Chromosome morphology was designated according to Levan *et al.* (1964) on the basis of centrometric index value. Total form percent (TF%) was calculated according to Huziwara (1962) and Kapoor & Löve (1970) and the grouping of chromosomes according to length as was done by Khan & Sarma (1967).

TF% = Ratio in percentage of the total sum of short arm lengths to the total length of chromosomes

$$\text{i. e. TF\%} = \frac{\text{Total sum of short arm lengths}}{\text{Total length of chromosomes}} \times 100$$

OBSERVATIONS AND DISCUSSION

The observations are summarized in the Table I.

Four representatives of the sub-section *Agardhia* have been investigated namely, *C. fibrosa* var. and f. *fibrosa*, *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii*, *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* and *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys*, showing chromosome number of n = 42, 42, 42 and 14 respectively (Pl. 1, Figs 1-4). Sarma & Khan (1965) determined n = 14 for *C. flaccida* from Uttar Pradesh, while Ramjee & Bhatnagar (1978) reported n = 28 in plants from Moradabad. Mukhopadhyay & Chatterjee (1980) also reported n = 14 and n = 42 for two popula-

TABLE I

Name of the taxon	Chromosome number (n)	Range of chromosome length in μm	TF %	Karyotype formula
Chara fibrosa Ag. ex Bruz. var. *fibrosa* f. *fibrosa*	42	1.38-4.14	36.07	$L(O)+M(Sm_8+m_0+St_3)+S(Sm_{18}+m_8+St_5)$
C. fibrosa var. *fibrosa* f. *curtissii* (T.F.A. ex Roxb.) R.D.W.	42	1.38-3.68	37.56	$L(O)+M(Sm_3+m_0+St_1)+S(Sm_{27}+m_8+St_3)$
C. fibrosa var. *fibrosa* f. *tylacantha* (Nordst.) R.D.W.	42	1.38-5.06	37.56	$L(Sm_1+m_0+St_0)+M(Sm_4+m_1+St_1)+S(Sm_{18}+m_9+St_8)$
C. fibrosa var. *hydropitys* (Reich.) R.D.W. f. *hydropitys*	14	1.38-3.45	33.33	$L(O)+M(Sm_0+m_0+St_1)+S(Sm_5+m_4+St_4)$

L : Long; M : Medium; S : Short; Sm : Submedian; m : Median; St : Subterminal.

tions of *C. flaccida*, occurring in West Bengal, India. Recently Labh & Verma (1986) has also reported chromosome numbers of some members of *C. fibrosa* complex namely, *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *fibrosa* (n = 42, 63); *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* (n = 14); *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys* (n = 14); *C. fibrosa* var. *hydropitys* f. *schneckii* (n = 28). It is thus clear that different members of *C. fibrosa* complex show chromosome numbers of different ploidy level ranging from n = 14 to 63. Chromosome number determined for *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* (n = 42) from West Bengal, India, is a new record. The taxon itself has not been located so far in any region of India outside West Bengal. The n = 42 chromosome number determined for *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* is also a new polyploid number recorded in this investigation, since previous count for this taxon was n = 14 by Sarma (1968) and Sarma & Ramjee (1971) from Uttar Pradesh, India. The chromosome number n = 14 obtained in *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys* is confirmatory with the previously published counts (Sarma & Khan, 1965; Sinha & Noor, 1967; Sinha & Verma, B.N. 1970; Ramjee & Sarma, 1971).

As regards the detailed karyotype (Pl. 2, Figs. 1a, 2a, 3a, 4a) there appears to be general homogeneity in most members of *C. fibrosa* studied excepting *C. fibrosa* var. and f. *hydropitys*, the karyotype of which is quite distinct from other members of *C. fibrosa* complex in having one chromosome with secondary constriction in the subterminal category. Khan & Sarma (1967) expressed the

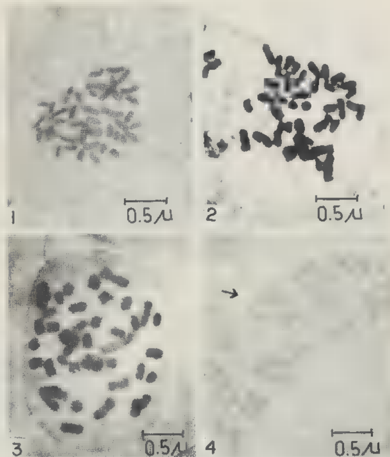


Planche 1. — 1. Metaphase of *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *fibrosa* showing n 42 chromosomes. 2. Metaphase of *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* showing n 42 chromosomes. 3. Metaphase of *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha* showing n 42 chromosomes. 4. Metaphase of *Chara fibrosa* var. *hydropitys* f. *hydropitys* showing ■ 14 chromosomes.

view that placement of *C. hydropitys* as a variety under *C. fibrosa* as suggested by Wood (1962) is justified since they obtained a close similarity in the karyotype of *C. flaccida* with this taxon. From the evidences so far obtained from karyotype analysis in the present study and due to the fact that this taxon shows a constant chromosome number n = 14 in all specimens studied so far from different geographical areas, it is better to consider this taxon as a distinct species – *C. hydropitys* as was done by majority of classical taxonomists.

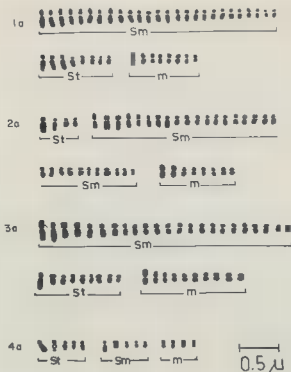


Planche 2. — Idiograms of 1a : *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *fibrosa*, 2a : *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii*, 3a : *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *tylacantha*, 4a : *Chara fibrosa* var. *hydropitys* f. *hydropitys*.

The karyotype of other three taxa studied are more or less of the same type, showing a slight gradation in chromosome size and differing from one another only with regard to the constituent number of submedian, subterminal and median chromosomes. Hence, inclusion of all these three taxa under the species complex *C. fibrosa* with different formal status as proposed by Wood (1965) is fully justified.

The geographical distribution of the species of the sub-section *Agardhia* is highly interesting. According to Wood (1962), and Wood & Imahori (1965), species of *C. fibrosa* are principally confined to the African, Asian and Australian arc from which most of their species were reported. Excepting the record of *C. fibrosa* var. and f. *fibrosa (C. gymnopitys)* with n = 28 chromosomes from North Carolina, U.S.A. (Hotchkiss, unpublished), *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *curtissii* from Florida, U.S.A., most of the other taxa of *C. fibrosa* complex occur in Southeast Asian Zone. The cytology of *C. gymnopitys* in India has to

far been carried out from three different geographical regions, Northern Zone (principally Benaras and Rohilkhand subdivision of Uttar Pradesh), Southern Zone (Karnataka) and Eastern Zone (West Bengal and Bihar). Chennaveeraiah & Bharati (1974) recorded the chromosome number of the following intraspecific taxa of *C. gymnopitys* : *C. gymnopitys* var. *typica* (A. Br.) Zanev.; *C. gymnopitys* var. *duriuscula* (A. Br.) Zanev.; *C. gymnopitys* var. *trachypitys* (A. Br.) Zanev.; *C. gymnopitys* var. *acanthopitys*. These specimens were collected from different localities of Mysore State.

Outside India, a high polyploid chromosome number of $n = 42$ has been reported from Fiji by Hotchkiss (1965). *C. fibrosa* var. and f. *fibrosa (C. benthamii)* showed $n = 14$, both in the Northern and Southern parts of India. Whereas in West Bengal $n = 14$ and $n = 42$ are in record. In *C. flaccida* on the other hand, $n = 14$ chromosomes are common to both Uttar Pradesh (Benaras) and Maharashtra (Sarma & Khan, 1965). In West Bengal, in addition to $n = 14$, $n = 42$ has also been recorded (Mukhopadhyay & Chatterjee, 1980) which has been confirmed in the present investigation. A chromosome number of $n = 28$ has been found from Moradabad, Uttar Pradesh, India by Ramjee & Bhatnagar (1978). *C. flaccida*, therefore, shows polyploid races in different geographical regions of India. Several other forms of *C. fibrosa* var. *fibrosa* like f. *curtissii*, f. *longicorollata* and f. *tylacantha* have been studied cytologically showing chromosome numbers $n = 14$ (Ramjee & Sarma, 1971), $n = 28$ (Chatterjee, 1979) and $n = 42$ (present report) respectively. It is significant that f. *longicorollata* and f. *tylacantha* were previously recorded only from Japan and Australia respectively, has now been recorded from India, also. In the present investigation, besides $n = 14$, $n = 42$ has also been recorded for f. *curtissii*, thereby showing again that this taxon is a polyploid one.

Of *C. fibrosa* var. *hydropitys* the chromosome number so far recorded from India is $n = 14$ (Ramjee & Sarma 1971; Ramjee & Bhatnagar, 1978 – all from U.P.) as well as from West Bengal (present report). This is the only taxa of *C. fibrosa* complex so far worked out in India from different regions which did not show any other chromosome number than $n = 14$. Though Noor & Mukherjee (1975) have claimed to have recorded $n = 8$ in some antheridial cells of a single globule of the taxon, their findings require further confirmation. One more taxon belonging to *C. fibrosa* complex namely *C. fibrosa* var. *fibrosa* f. *erythrogyna* has been studied cytologically by Ramjee & Bhatnagar (1978) showing a chromosome number of $n = 14$ of specimens from Moradabad, Uttar Pradesh.

High values of TF% over 40.0 may be taken as indicative of a more or less symmetrical karyotype, whereas lower values (i. e. around 30.0) is a feature of asymmetrical karyotype (Kapoor & Löve, 1970). The symmetry of the karyotype has frequently been suggested as an indication of the degree of specialization of a species (Levitsky, 1931; Stebbins, 1950), so that an asymmetrical karyotype would be characteristics of an advanced species as compared with symmetrical karyotype. Members of the *Chara fibrosa* complex having TF% value in one range 33.33-37.56 confirms an intermediate position between

primitive ecorticated taxa like *C. braunii* and advanced corticated triplostichous taxa like *C. zeylanica* (unpublished).

ACKNOWLEDGEMENTS : Authors are grateful to Prof. A.K. Sharma, Golden Jubilee Professor of Indian National Science Academy for providing laboratory facilities and encouragement to carry out this work. Thanks are also due to University Grants Commission for financial support to S. R.

REFERENCES

CHATTERJEE P., 1979 — *Chara fibrosa* var. *fibrosa* f. *longicorollata* : A new record for India and its cytology. *Curr. Sci.* 48 : 545-547.

CHENNAVEERAIAH M.S. & BHARATI S.G., 1974 — Morphological and cytological observations on *Chara gymnopitys* A. Br. *Cytologia* 39 : 443.

HOTCHKISS A.T., 1965 — Chromosome numbers in Characeae from the South Pacific. *Pacific Sci.* 19 : 31-37.

HUZIWARA Y., 1962 — Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *Amer. J. Bot.* 49 : 116-118.

KAPOOR B.M. & LÖVE A., 1970 — Chromosomes of Rocky Mountain *Ranunculus*. *Caryologia* 23 : 575-894.

KHAN M. & SARMA Y.S.R.K., 1967 — Some observations on the cytology of Indian Charophyta. *Phykos* 6 : 62-74.

LABH L. & VERMA B.N., 1986 — New counts for *Chara fibrosa* complex. *Cytologia* 51 : 185-191.

LEVAN A., FREDGA K. & SANDBERG A., 1964 — Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52 : 201-220.

LEVITSKY G.A., 1931 — Morfologiya khromosomi ponyatie kariotipe v systematike. *Trudy Prikl. Bot.* 27 : 187-240.

MUKHOPADHYAY A. & CHATTERJEE P., 1980 — Cytomorphology of *Chara flaccida* A. Br. from West Bengal. *Cell and Chromosome Newslett.* 3 : 37-39.

NOOR M.N. & MUKHERJEE S., 1975 — On the aneuploid chromosome number in *Chara hydropitys* Reich. from India. *Cytologia* 40 : 803-807.

PAL B.P., KUNDU B.C., SUNDARALINGAM U.S. & VENKATARAMAN G.S., 1962 — *Charophyta*. Indian Council of Agricultutal Research, New Delhi, 130 p.

RAMJEE & BHATNAGAR S.K., 1978 — Studies on Charophytes from Rohilkhand Division - I. Moradabad : Taxonomic enumeration and chromosome counts. *Phykos* 17 (1 & 2) : 87-92.

RAMJEE & SARMA Y.S.R.K., 1971 — Some observations on the morphology and cytology of Indian Charophyta. *Hydrobiologia* 37 : 367.

RAY S. & CHATTERJEE P., 1986 — Karyotype analysis in *Chara braunii* Gm. f. *braunii* (Characeae). *Nucleus* 29 (1, 2) : 33-36.

SARMA Y.S.R.K., 1968 — Cytology and cytotaxonomy of Indian Charophyta, a resume. *Nucleus (Suppl. Vol.)* pp. 128-137.

SARMA Y.S.R.K. & KHAN M., 1965 — A preliminary report on the survey of chromosome numbers of Indian Charophyta. *Nucleus* 8 : 33-38.

SARMA Y.S.R.K. & RAMJEE, 1971 — Significance of chromosome numbers in Charophyta — a discussion. *Caryologia* 24 : 391.

SINHA J.P. & NOOR M.N., 1967 — Chromosome numbers in some members of Chlorophyceae of Chotanagpur (India). *Phykos* 6 : 106-109.

SINHA J.P. & VERMA B.N., 1970 — Cytological analysis of the Charophytes of Bihar. *Phykos* 3 : 92-99.

STEBBINS G.L., 1950 — *Variation and evolution in plants.* New York : Columbia University Press, 643 p.

SUNDARALINGAM V.S., 1959 — A systematic account of the South Indian Characeae. *Proc. Indian Acad. Sci.* 49B : 7-51.

WOOD R.D., 1962 — New combinations and taxa in the revision of Characeae. *Taxon* 11 : 7-25.

WOOD R.D. & IMAHORI K., 1965 — *A revision of the Characeae : Monograph of the Characeae*, Vol. 1. Weinheim : J. Cramer, 904 p.

APPROCHE D'UNE SYSTÉMATIQUE BIOCHIMIQUE CHEZ LES CHAROPHYTES

Pierrette GEMAYEL*

RÉSUMÉ. — La technique de l'électrophorèse est appliquée pour la première fois en France chez les Charophytes. Plusieurs types de gels d'amidon sont expérimentés, ainsi que divers tampons d'extraction. L'activité de quatorze systèmes enzymatiques est vérifiée. Les premières analyses permettent de constater, chez le genre *Chara*, une différenciation interspécifique importante. Les populations étudiées s'avèrent monomorphes, sauf une qui montre un polymorphisme enzymatique élevé.

ABSTRACT. — The technique of electrophoresis has been applied on Charophyta for the first time in France. Several types of starch gels as well as extraction buffers were used. Fourteen enzymatic systems were tested for activity. The first results show an important interspecific differentiation within the genus *Chara*. All off the studied populations were monomorphic, except for one that was highly polymorphic.

MOTS CLÉS : Électrophorèse, systématique, marqueurs biochimiques, polymorphisme, Charophytes.

INTRODUCTION

Présentes au Paléozoïque, les Charophytes forment un embranchement qui comprend, encore à notre époque, un très grand nombre d'espèces. L'étude de leur évolution et des relations entre espèces actuelles et fossiles est un des axes prioritaires des recherches sur les Charophytes. Dans le cadre de l'Action Thématique Programmée : «Évolution: Aspects biologiques et paléontologiques», il fut décidé de mettre au point la technique de l'électrophorèse sur ce matériel végétal afin de rechercher des marqueurs biochimiques. Ces marqueurs doivent permettre en effet de :

1) Préciser les connaissances de la systématique, en testant le degré de polymorphisme ou d'homogénéité inter et intraspécifique, notamment chez trois espèces qui soulèvent des problèmes de taxinomie : *Chara vulgaris* L. auquel

* Institut des Sciences de l'Évolution, U.A. 327, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Place E. Bataillon - 34060 Montpellier Cedex.

est rattaché un grand nombre de formes (21, selon Wood & Imahori, 1965), *Chara globularis* Thuill., monoïque, et *Chara aspera* Deth. ex Willd., dioïque.

2) Vérifier le niveau de ploïdie en recherchant, dans les populations polymorphes, une éventuelle hétérozygotie. Pendant longtemps, l'étude de l'évolution des Charophytes a porté sur un matériel fossile, considéré comme haploïde. Mais depuis quelques années, l'idée qu'il pourrait exister des taxons diploïdes se fait jour. En effet, on observe dans la nature actuelle :

– d'une part, des espèces dont l'oosphère possède une cellule-sœur unique donnant un oogone à plaque basale simple.

– d'autre part, des espèces dont l'oosphère possède trois cellules-sœurs donnant un oogone à plaque basale composée.

Cette différence pourrait traduire la nature de l'appareil végétatif, haploïde dans le premier cas, diploïde dans le second cas (Soulie-Marche, 1979). De plus, si cette interprétation se confirmait, elle permettrait de préciser l'emplacement de la méiose, qui est encore très discuté (Guerlesquin & Noor, 1982).

3) Connaître ou vérifier le mode de reproduction en analysant le taux de polymorphisme à l'intérieur des populations. Les Charophytes, comme beaucoup d'autres végétaux, ont tendance à se reproduire végétativement, quand elles se trouvent dans un milieu stable. Par contre, dans un milieu instable, quant à la température et à la hauteur d'eau par exemple, elles investissent dans la reproduction sexuée. Il est intéressant de noter à ce propos que l'oogone calcifié des Charophytes peut résister longtemps à la sécheresse avant de germer et cette calcification n'a lieu que si l'oosphère a été fécondée. Il sera possible également de vérifier l'allogamie ou l'autogamie des taxons monoïques.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'électrophorèse consiste à faire migrer des particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. En l'occurrence, ces particules sont des protéines solubles et plus précisément des enzymes. La méthode permet de séparer les protéines ayant la même fonction enzymatique, mais des structures différentes se traduisant par des mobilités différentes dans le champ électrique. Ces molécules protéiques isoactives enzymatiquement, mais séparables par électrophorèse sont appelées isoenzymes. Les isoenzymes codées par les formes allèles d'un même gène, sont appelées alloenzymes.

La technique comprend trois étapes : 1) L'extraction, c'est à dire l'obtention de la solution protéique. 2) La migration. 3) La révélation des enzymes.

Extraction. — Jusqu'à ce jour, la méthode d'analyse par électrophorèse n'a jamais été utilisée en France, sur les Charophytes. Des travaux préliminaires sur ces végétaux, effectués aux U.S.A. par Grant & Proctor (1980), n'ont, semble-t-il, pas été poursuivis.

Il s'agit donc de mettre au point cette technique sur un matériel nouveau. La première difficulté, en particulier chez les végétaux, est d'obtenir une solution

protéique active, d'abord en éliminant les substances qui peuvent se lier aux protéines lors du broyage des échantillons et entraîner leur insolubilisation, ensuite en évitant tout phénomène d'oxydation. Pour cela une quinzaine de tampons d'extraction, différant par leur composition et leur pH, ont été préparés dans le but de tester les mieux adaptés aux Charophytes.

Le tampon au phosphate de potassium (K_2HPO_4) utilisé par Grant & Proctor (1980) [redacted] été repris tel quel et modifié, d'une part en faisant varier le pH de 0,2 en 0,2 dans des valeurs comprises entre 7 et 8, d'autre part en ajoutant un anti-oxydant, le thioglycolate de sodium (0,3g/50 ml de tampon) et un produit empêchant les phénomènes de précipitation, le polyéthylène glycol (0,5g/50ml de tampon). D'autres tampons ont été préparés en remplaçant le phosphate de potassium par du Tris.

La mise au point des techniques a été faite à partir de matériel récolté sur le terrain. Trois espèces du genre *Chara* L. ont été prélevées : *Chara globularis* Thuill., *Chara hispida* L. et *Chara vulgaris* L. Les premiers essais pour contrôler l'activité enzymatique ont été effectués en écrasant des petits morceaux de thalle d'environ 3 cm directement sur les papiers Wathman, sans utiliser de tampon d'extraction. Mais par la suite, afin de pouvoir multiplier les analyses pour un même individu, il [redacted] paru indispensable de disposer d'une quantité suffisante d'extrait. Des solutions protéiques ont donc été réalisées en broyant dans un mortier les plantes entières de Charophytes et en ajoutant pour chacune d'elles les différents tampons d'extraction à tester (environ 0,3 ml/2,5 g de poids frais afin d'obtenir un mélange ni trop pâteux car inutilisable, ni trop liquide pour ne pas diluer les protéines). Ces homogénats sont ensuite récupérés dans des microtubes, sans faire de centrifugation, et conservés au congélateur à moins 50°C.

Migration. – La technique sur gel d'amidon a été choisie en raison de sa souplesse d'utilisation et de la variété des tampons disponibles. Les protocoles utilisés sont ceux décrits par Smithies (1955). Les seules modifications appor-

TAMPONS DE MIGRATION	% AMIDON	VOLTAGE AFFICHE	TEMPS [redacted] MIGRATION
HISTIDINE	13	140 V	6 H.
LITH-BORATE	12	350 V	4 H.
TRIS-BORATE	12	250 V	6 H.
CONTINU	12,5	100 V	[redacted] H. 30
KRISTJANSON	12	250 V	4 H.
POULIK	11,5	250 V	4 H.

Tableau I : Conditions de migration retenues lors des premiers essais sur *C. hispida*, *C. globularis* et *C. vulgaris*.

tées concernent la concentration en amidon, la tension appliquée et le temps de migration qui ont été adaptés en fonction des résultats obtenus. Les conditions de migration principalement retenues lors des premiers essais sont données dans le tableau I. Par la suite, trois systèmes de migration seulement ont été utilisés car donnant les meilleures résolutions. Ce sont les systèmes Histidine, Tris-Borate et Lithium-Borate dont les compositions, molarités et pH sont précisés au paragraphe suivant.

Révélation. — L'activité enzymatique de quatorze systèmes a été vérifiée :

— 8 oxydoréductases : Alcool déshydrogénase (ADH), Glutamate déshydrogénase (GDH), Malate déshydrogénase (MDH), Isocitrate déshydrogénase (IDH), Phosphogluconate déshydrogénase (PGD), Polyphénol oxydase (PPO), Tétrazolium oxydase (TO), Peroxydase (POX).

2 transférases : Phosphoglucomutase (PGM), Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT).

— 3 hydrolases : Estérase (EST), Phosphatase acide (PAC), Leucine aminopeptidase (LAP).

— 1 isomérase : Phospho-glucose isomérase (PGI).

TAMPONS	ADH	GDH	MDH	IDH	PPO	TO	POX	PGI	PGM	GOT	EST	PAC
HISTIDINE	0	+	+	++			0	+	++	+	+	+
LITH-BORATE	0		0				0	++	+		+	0
TRIS-BORATE			++	++	0		0	++	++	+	++	++
CONTINU	0	+	+	+								
KRISTJANSON					0	0	0				+	
POULIK	0							+		+	+	+

Tableau II. — Intensité de l'activité enzymatique dans différents tampons chez *C. hispida*, *C. globularis* et *C. vulgaris*.
0 : pas d'activité de l'enzyme; + : présence d'une activité; ++ : forte activité.

Le principe des colorations utilisées pour les révélations peut être trouvé dans Harris & Hopkinson (1976). Les résultats sur l'intensité de l'activité enzymatique selon les types de gels testés sont donnés dans le tableau II. L'activité des PGD et LAP n'ayant été vérifiée qu'une seule fois n'a pas été notée.

Quant aux meilleures résolutions, elles sont obtenues pour :

1) la PGI avec tampon Lithium-Borate (électrode : 0,3 M de LiOH, 0,19 M d'H_3BO_4, le pH ajusté à 8,1 ; gel : 0,05 M de Tris, 0,008 M d'acide citrique dans la solution tampon d'électrode diluée à 1/9, le pH ajusté à 8,4).

2) les PGM, IDH et PAC sur un tampon Tris-Borate (électrode : 0,3 M d'H_3BO_4 ajusté à pH 8,2 avec NaOH en pastilles; gel : 0,1 M de Tris, 0,04 M d'H_3BO_4, le pH ajusté à 8,7).

Le tampon Histidine-Citrate (Brewer, 1970) légèrement modifié a également été utilisé pour les PGM et IDH (électrode : 0,1 M d'acide citrique, 0,4 M de Tris, le pH ajusté à 8; gel : 0,005 M d'Histidine ajusté à pH 8 avec du Tris). Avec ce tampon les taches ont une intensité plus forte que sur le système Tris-Borate, mais il apparaît des distorsions importantes gênant la lecture des zymogrammes.

Quels que soient le type de gel utilisé et l'enzyme révélée, l'adjonction d'EDTA empêche la migration.

A ce stade de la mise au point effectuée sur des échantillons du genre *Chara* L. : *Chara globularis* Thuill., *Chara hispida* L. et *Chara vulgaris* L., il est déjà possible de constater :

– l'absence de phénomène d'oxydation, même sur un broyat laissé longtemps à l'air libre sans tampon d'extraction, ce qui est exceptionel pour un matériel végétal.

– l'absence d'activité des oxydases, qui peut être mise en relation avec l'absence d'oxydation spontanée.

Nous ne disposons pas à l'heure actuelle d'explication biologique satisfaisante de ces observations.

Par la suite, afin d'entreprendre l'étude du polymorphisme proprement dit, les expérimentations sur *Chara vulgaris* L. et *Chara globularis* Thuill., monoïques, ont été reprises en ajoutant une espèce dioïque : *Chara aspera* Deth. ex Willd.

De plus, pour répondre aux questions sur le ou les niveaux de ploïdie chez les Charophytes, la mise au point de la technique a été élargie aux genres *Nitella* (Ag.) A. Braun avec *N. tenuissima* (Desv.) Kütz. et *Tolypella* (A. Braun) Leonh. avec *T. glomerata* Leonh. *Nitella tenuissima* et *Tolypella glomerata* sont deux espèces dont l'oosphère possède trois cellules-sœurs donc susceptibles d'être diploïdes (Soulie-Marsche, 1979).

PREMIERS RÉSULTATS

Extraction

– Pour le genre *Chara*, la poursuite des travaux confirme les premières observations. Contrairement à ce qui est courant pour un matériel végétal, il n'apparaît ni phénomène d'oxydation ni précipitation. D'autre part, les résultats sont identiques quels que soient les divers tampons d'extraction testés et même sans tampon d'extraction. On obtient donc un bon extrait protéique en broyant simplement les échantillons avec un peu d'eau ionisée, sans faire de centrifugation.

– Pour le genre *Nitella*, il n'en est pas de même. Si les extraits ne révèlent aucun phénomène d'oxydation, par contre, on observe immédiatement au fond

du mortier un précipité avec un surnageant limpide. Ces extraits ont cependant été récupérés et analysés par électrophorèse. Il n'est apparu aucune activité enzymatique, sauf celle, très faible, des phosphatases acides (PAC).

— Pour le genre *Tolypella*, il ne se produit pas de précipitation mais un brunissement très net et très rapide du broyat, correspondant probablement à une réaction d'oxydation. L'adjonction d'antioxydants n'arrête pas le processus.

Il existe donc, dès l'extraction, un comportement totalement opposé pour les trois genres.

Activité enzymatique

Les tampons d'électrophorèse retenus pour les enzymes étudiées sont notés dans le tableau III. A l'exception de la PGI qui n'est bien révélée que sur Lithium-Borate, les autres enzymes peuvent être révélées en utilisant deux systèmes différents. D'une façon générale, avec le tampon Histidine les taches sont intenses mais mal résolues, avec le tampon Tris-Borate les taches sont faibles mais plus nettes. Pour les GOT, MDH et EST on n'obtient jamais de bandes bien nettes quel que soit le tampon de migration utilisé.

ENZYMES	■	LB	TB
PAC	MR		BR
GOT	MR		MR
PGI		BR	
PGM	MR		BR
MDH	MR		MR
IDH	MR		BR
EST		MR	MR

Tableau III : Choix du tampon d'électrophorèse en fonction des enzymes révélées.
H : Tampon Histidine; LB : Tampon Lithium-Borate; TB : Tampon Tris-Borate; MR : Résolution médiocre; BR : Bonne résolution.

Chez *Nitella tenuissima* (Desv.) Kütz., le temps de migration des phosphatases acides est très différent du temps de migration de ces mêmes enzymes chez les espèces du genre *Chara*. Il est ainsi impossible de traiter les échantillons des deux genres sur le même gel.

Les extraits de *Tolypella glomerata* Leonh. présentent une trace d'activité pour les GOT, PGI, MDH et IDH.

Les difficultés à obtenir un extrait protéique actif des deux genres *Nitella* et *Tolypella* n'étant pas surmontées, l'étude a principalement porté sur le genre *Chara*. Trois espèces, *Chara globularis* Thuill., *Chara vulgaris* L. et *Chara aspera* Deth. ex Willd., récoltées dans trois milieux différents ont été analysées ensemble et séparément. Cette étude confirme l'absence des oxydases. Par contre, les déshydrogénases sont très actives, exception faite de l'alcool déshydrogénase. On constate aussi une bonne activité de la phospho-glucose isomérase et de la phosphoglucomutase.

— Étude interspécifique :

La lecture des zymogrammes révèle une différenciation interspécifique très nette, y compris entre *Chara globularis* et *Chara aspera* (rassemblés en une seule espèce selon Wood & Imahori, 1965), pour les enzymes suivantes : PGM, PGI, IDH, MDH, EST, GOT et PAC. Il est même nécessaire, pour les estérases et les phosphatases acides en particulier, d'ajuster le protocole pour chacune des trois espèces (Fig. 1).

Chara globularis et *Chara vulgaris*, très semblables morphologiquement dans certains milieux, au point qu'une détermination fine sous la loupe soit indispensable, se distinguent parfaitement par électrophorèse.

— Étude intra-population :

— *Chara aspera* : Un échantillon de pieds mâles et de pieds femelles récoltés dans un milieu saumâtre asséché en été, s'est avéré monomorphe pour toutes les enzymes testées. Il n'existe aucune différence, dans le niveau et l'intensité des bandes, entre les pieds mâles et les pieds femelles.

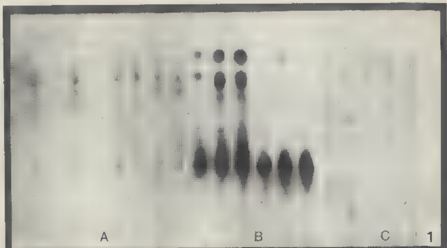
— *Chara vulgaris* : Un premier échantillon dans un milieu relativement instable, le niveau de l'eau variant en cours d'année, s'est également révélé monomorphe pour toutes les enzymes testées. Des échantillons de la même «population», ramassés à des saisons différentes, montrent qu'il existe une variation d'intensité importante de certaines activités enzymatiques, principalement celles des PGI et PAC, selon la période de récolte (Fig. 2).

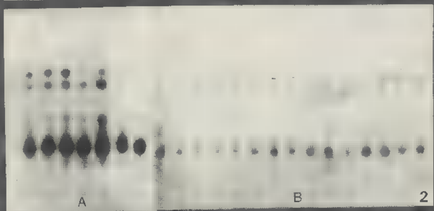
— *Chara globularis* : L'analyse d'échantillons récoltés dans un milieu stable en température et hauteur d'eau tout au long de l'année, indique une variation du niveau des bandes pour les PGI, PGM et IDH. On observe trois niveaux de migration pour chacune de ces enzymes (Fig. 3).

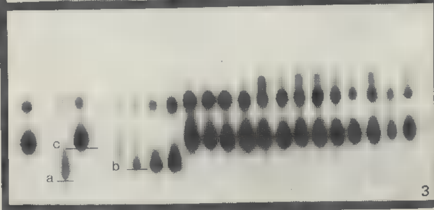
CONCLUSION

Il s'agira bien sûr d'affiner l'étude de ce polymorphisme afin de vérifier si ces niveaux de bandes correspondent bien à des allozymes. Mais les zymogrammes obtenus semblent déjà confirmer la nature haploïde du genre *Chara* dont les espèces possèdent une oosphère à cellule-sœur unique.

D'autre part, contrairement à toute attente, on observe :


A
B
C
1


A
B
2


c
a
b
3

– Une homogénéité dans une «population» de *C. aspera* récoltée dans un milieu instable, favorisant donc une reproduction sexuée, l'autogamie étant exclue puisque cette espèce est dioïque.

– Une hétérogénéité dans une «population» de *C. globularis* récoltée dans un milieu stable, où «devrait»dominer une reproduction asexuée. L'autogamie n'est pas exclue puisque l'espèce est monoïque. De plus, l'étude biométrique de *C. globularis* montre qu'il s'agit d'un taxon ayant une faible variation morphologique tant pour les organes reproducteurs que pour l'appareil végétatif (Soulie-Marsche, 1979).

La poursuite du travail consistera d'abord à multiplier les analyses intra et interpopulations pour essayer d'expliquer l'apparente contradiction entre ces résultats d'électrophorèse et les observations biologiques et écologiques. Parallèlement, il faudra résoudre les problèmes d'extraction pour les genres *Nitella* et/ou *Tolypella* afin de répondre aux questions sur leur niveau de ploïdie.

Quoi qu'il en soit, cette étude préliminaire montre que la différenciation biochimique chez les Charophytes, tout au moins à l'intérieur du genre *Chara*, est suffisante pour déterminer sans ambiguité les espèces en dehors des critères morphologiques.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement Mme M. Guerlesquin, MM. L. Thaler et P. H. Gouyon sans lesquels ce travail n'aurait pu se faire, Mme I. Soulie-Marsche qui m'a fourni le matériel déterminé et l'équipe de l'Unité B2P du CEPE à Montpellier qui m'a chaleureusement accueillie et permis d'utiliser son service d'électrophorèse. Cette étude a bénéficié d'un financement C.N.R.S. dans le cadre l'A.T.P. Évolution (9. 84. 33 et 9. 85. 63).

Fig. 1 — Activité des phosphatases acides chez : *Chara globularis* (A); *Chara vulgaris* (B); *Chara aspera* (C). Le temps de révélation étant très différent pour ces trois espèces, le gel a été coupé afin d'arrêter la coloration : après 5 mn pour *C. vulgaris*; après 2 h pour *C. globularis*; après toute une nuit pour *C. aspera*.

Fig. 2 — Activité des phosphatases acides selon la période de récolte chez *Chara vulgaris* : échantillon récolté en juin (A); échantillon récolté en mars (B). Les deux échantillons proviennent de la même station. Le gel a été coupé afin d'arrêter la coloration : après 5 mn pour l'échantillon de juin; après 30 mn pour l'échantillon de mars.

Fig. 3 — Activité de la phospho-glucose isomérase chez *Chara globularis*. Il existe 4 zones de PGI par individu mais, sur ce zymogramme, seule la zone du bas est polymorphe et présente 3 niveaux de migration a, b et c.

RÉFÉRENCES

BREWER G.J., 1970 — *An introduction to isozyme techniques.* New York - San Francisco - London, Academic Press, 185 p.

GRANT M.C. & PROCTOR V.W., 1980 - Electrophoretic analysis of genetic variation in the Charophyta. I. Gene duplication via polyploïdie. *J. Phycol.* 16 : 109-111.

GUERLESQUIN M. & NOOR M.N., 1982 — La méiose et sa place dans le cycle des Charophytes : thèses en présence et incertitudes. *Cryptogamie, Algol.* 3 (4) : 323-329.

HARRIS H. & HOPKINSON D.A., 1976 — *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics.* New York. North Holland publishing Company, Inc.

SMITHIES O., 1955 — Zone electrophoresis in starch gels. Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61 : 629-641.

SOULIE-MARSCHE I., 1979 — *Étude comparée de gyrogonites de Charophytes actuelles et fossiles et phylogénie des genres actuels.* Thèse Doctorat d'État, Montpellier, 341 p.

WOOD R.D. & IMAHORI K., 1964-65 — *A revision of the Characeae : Monograph of the Characeae*, Vol. I, *Iconograph of the Characeae*, Vol. II. Weinheim, J. Cramer.

OUVRAGES REÇUS POUR ANALYSE

STRASKRABA M. & GNAUCK A.H., 1985 — **Freshwater Ecosystems. Modelling and Simulation.** Developments in Environmental Modelling, 8.

Avec cet ouvrage de 309 pages et un tableau dépliant, nous avons affaire au 8e volume d'une série consacrée à la modélisation en Écologie.

Les auteurs, le premier de nationalité tchèque, le second originaire de la République Démocratique d'Allemagne, mettent ici en commun leurs connaissances scientifiques, Straskraba étant limnologiste et Gnauck mathématicien cybernéticien. Pour eux, la modélisation mathématique des systèmes écologiques entre dans une phase nouvelle où la théorie des systèmes commence à être appliquée correctement au problème.

Trois modes de traitement peuvent être choisis :

1) la méthodologie stochastique de la «boîte noire» qui est l'application pure et simple de la théorie classique des systèmes
2) la méthodologie de la simulation du déterminisme qui est l'application des études des processus théoriques classiques aux écosystèmes. Ici, les différentes présomptions théoriques, les effets exogènes et les modifications endogènes sont simulés à l'aide d'un calculateur
3) la méthodologie cybernétique qui consiste à traiter un écosystème comme un système capable de s'auto-optimiser.

Les auteurs tentent ici, de relier ces trois méthodologies autant que faire se peut, pour aboutir à une modélisation des écosystèmes dulçaquicoles.

Tous les exemples qu'ils citent sont tirés de leur propres travaux ou de ceux de collègues auxquels ils ont dû faire appel, l'étendue de la modélisation mathématique dans ce domaine ayant pris, aujourd'hui, des dimensions considérables. C'est ainsi que des chercheurs de la République Démocratique d'Allemagne, de Tchécoslovaquie, d'Angleterre ou des U.S.A., entre autres, ont contribué à l'élaboration de ce livre.

Quatre parties composent l'ouvrage :

– la première traite de la méthodologie et commence par une introduction aux principes de la théorie des systèmes et à leurs applications.

– la seconde aborde le problème de la modélisation de sous-systèmes : modèles hydrochimiques; modèles de production primaire; modèles de production secondaire. Dans cette seconde partie, l'accent est mis plus particulièrement sur les processus pélagiques dans les eaux stagnantes caractérisées par des structures relativement peu complexes à partir desquelles des modèles peuvent être aisément développés. Ici, l'espèce est délaissée au profit du processus, autrement dit la structure de l'écosystème est plutôt négligée par rapport à sa fonction.

– la troisième partie est consacrée à la description des applications de la technique de modélisation comme solution à des problèmes théoriques et pratiques. Elle met clairement en évidence la diversité des méthodes et des objectifs de modélisation.

– enfin, dans la quatrième partie, les auteurs abordent les plus récents développements des méthodes et la théorie de la modélisation des écosystèmes dulçaquicoles. Les nouveaux courants méthodologiques sont signalés. Le dernier chapitre est consacré par Straskraba et Gnauck à exposer leur contribution à l'élaboration d'une théorie des écosystèmes dulçaquicoles.

Cet ouvrage riche en documentation bibliographique, schémas de bonne qualité et graphes multiples intéressera moins le systématicien que l'écologiste qui se doit d'en connaître la substance.

Alain Couté

EVANS L.V. & HOAGLAND K.D. (Eds.), 1986 – **Algal Biofouling**, Studies in Environmental Science 28.

Cet ouvrage relié, de 318 pages, est le 28e volume d'une série dont l'objet est la pollution. Il regroupe 18 communications présentées lors d'un symposium qui s'est tenu à Gainesville (U.S.A.) en août 1985 à l'Université de Floride. Le thème général de ce symposium organisé par les éditeurs était «Algal Biofouling», autrement dit «salissure ou encrassement par voie biologique».

Les algues marines comme les algues dulçaquicoles, les micro- comme les macroalgues, de même que les animaux sont traités ici sans distinction étant, les uns comme les autres, causes de ces phénomènes de «Biofouling».

Ce terme défini par Round en 1981 comme étant la croissance d'algues sur toutes les constructions humaines, trouve son acception élargie ici. Il est employé pour caractériser la conséquence de l'eutrophisation, voire même la fixation et le développement de tout micro- ou macroorganisme sur un quelconque substrat immergé naturel ou d'origine humaine.

Les communications rapportées traitent de sujets très variés tels, entre autres, que «peintures anti-fouling», «mode d'adhésion des algues sur le substrat», «effet du cuivre et du zinc sur le développement des algues».

Il s'agit donc d'une mise au point sur l'état des connaissances actuelles sur le phénomène de «Biofouling» et sur les différents axes de recherche qu'il concerne.

De nombreux schémas, figures et photographies dont bon nombre d'excellentes micrographies au M.E.B. (microscope à balayage) illustrent cet ouvrage qui s'adresse aussi bien à l'étudiant débutant qu'au chercheur confirmé.

Force nous est de constater qu'aucun chercheur français n'était présent lors de ce symposium. Est-ce une coïncidence ou ces thèmes de recherche ne sont-ils pas considérés comme porteurs ?

A. Couté

Aux U.S.A. comme au Canada, ces volumes sont disponibles auprès d'Elsevier Science Publishers Co. Inc., P.O. Box 1663, Grand Central Station, New York, N. Y. 10163.



CRYPTOGAMIE, ALGOLOGIE

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Cryptogamie, Algologie publie des articles originaux ou de synthèse sur les algues. Sont acceptés les manuscrits rédigés en français ainsi qu'en allemand, anglais et espagnol.

Les manuscrits, et toute correspondance, doivent être adressés au Directeur-Rédacteur de *Cryptogamie, Algologie*, Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue Buffon, 75005 Paris, France.

Chaque manuscrit est soumis à deux lecteurs compétents, membres ou non du Comité de Lecture (les auteurs peuvent proposer eux-mêmes des noms de personnes susceptibles de juger la valeur de leur travail). Les avis des lecteurs sont transmis de façon anonyme à l'auteur. Si nécessaire, le manuscrit rectifié doit être ensuite retourné dans les plus brefs délais au Directeur-Rédacteur pour publication.

Les tirages à part sont à la charge des auteurs, de même que les frais de reproduction des illustrations. Toute correction d'auteur (modification apportée au manuscrit définitivement accepté) est facturée.

LE MANUSCRIT

— adresser trois exemplaires : l'original et deux copies;

— dactylographier en double interligne, au recto exclusivement, y compris les légendes des illustrations, des tableaux, et les notes infrapaginales;

— numéroter chaque page à la suite, y compris la bibliographie;

— mettre les tableaux et les légendes des illustrations sur des pages séparées, après le texte.

Le titre

— il doit être concis;

— s'il comporte un nom générique ou spécifique d'algue, indiquer sa position taxinomique;

— ne pas indiquer le(s) nom(s) de (des) l'auteur(s) du nom scientifique;

— pour les articles non rédigés en anglais, ajouter la traduction en anglais du titre (pour les «contents»);

— proposer pour le haut de page un titre condensé de 50 signes au maximum;

— faire suivre le titre du (des) nom(s), prénom(s) et adresse(s) de(s) l'auteur(s);

— ajouter toute note infrapaginale nécessaire.

Le résumé

— donner obligatoirement un résumé en français et en anglais (utilisé dans les périodiques publiant des analyses) ainsi que dans la langue du manuscrit si nécessaire;

— ne pas utiliser d'abréviations;

— donner une liste de mots clés dans la langue de l'article.

Le texte

— indiquer clairement le plan du texte avec, si possible, les mentions : Introduction, Matériel(s) et Méthode(s), Résultat(s), Discussion(s), Conclusion(s), Remerciement(s), Références bibliographiques;

— souligner les mots qui doivent être en italiques;

— faire suivre la première mention d'un nom de genre ou d'espèce du nom de son (ses) auteur(s);

— indiquer les références bibliographiques par le nom de(s) l'auteur(s) sans les initiales des prénoms (sauf si plusieurs auteurs portent le même nom) suivi de l'année de parution; lorsque l'article cité est signé par plus de deux auteurs, indiquer seulement le nom du premier auteur suivi de «*et al.*»;

– limiter au maximum les notes infrapaginales; les faire figurer au bas de la page correspondante et les signaler dans le texte par un chiffre arabe;
– utiliser les symboles et unités conformes à la nomenclature internationale.

Les tableaux

– les numéroter avec des chiffres romains;
– les dactylographier clairement sans rature ni surcharge;
– tracer les traits à l'encre de Chine.

Les références bibliographiques

– les présenter à la suite du texte;
– indiquer les auteurs par ordre alphabétique;
– indiquer les travaux d'un même auteur selon l'ordre chronologique;
– pour les abréviations des périodiques se référer au : *Botanico-Periodicum-Huntianum.* LAWRENCE G.H.M. *et al.*, Pittsburgh, Pa., Hunt Botanical Library, 1968.
– présenter les références complètes, selon les exemples suivants :

FELDMANN J., 1952 – Les cycles de reproduction des Algues et leurs rapports avec la phylogénie. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 13 : 1-49.
CHADEFAUD M., 1960 – *Les végétaux non vasculaires. Cryptogamie. In* CHADEFAUD M. & EMBERGER L., *Traité de Botanique systématique.* Paris, Masson, Vol. I, xv + 1018 p.
WEST J.A. & HOMMERSAND M.H., 1981 – Rhodophyta : life histories. *In* LOBBAN C.S. & WYNNE M.J. (Eds.), *The Biology of Seaweeds.* Botanical Monographs Vol. 17, Oxford, Blackwell Sci. Publ., pp. 133-193.
ABDEL-RAHMAN M.H., 1983 – *Recherches sur la reproduction des Acrochaetiales (Rhodophycées.* Thèse Doctorat d'État, Paris VI, 391 p.

LES ILLUSTRATIONS

– la justification de la revue est 11,5 cm x 17,5 cm;
– si possible, grouper les illustrations (dessins au trait ou photographies séparément) pour occuper la largeur de la page;
– numéroter les dessins au trait, les graphiques, les photographies avec des chiffres arabes, à la suite, selon leur ordre d'apparition dans le texte;
– indiquer l'échelle sur chaque figure; ne pas mentionner de grandissement;
– utiliser les mêmes symboles et abréviations que dans le texte;
– utiliser des caractères de transfert pour les chiffres, lettres et symboles; leurs dimensions, après réduction éventuelle, doivent être comprises entre 2 mm et 8 mm;
– protéger chaque illustration par une feuille de papier fin;
– mentionner au crayon bleu clair toutes indications utiles; porter au verso de chaque illustration le(s) nom(s) de(s) l'auteur(s);
– pour leur envoi, ne pas plier les illustrations; éviter de les rouler.

Les dessins au trait

– fournir les originaux et deux photocopies;
– limiter les dimensions des originaux, au maximum, au triple de celles de la justification;
– exécuter les dessins à l'encre de Chine sur bristol blanc ou papier calque;
– tenir compte de la réduction pour l'épaisseur des traits.

Les photographies

– fournir trois jeux de photographies : un jeu de photographies groupées en planches et montées sur carton blanc léger pour la reproduction; les deux autres montés ou non;
– limiter à 5 mm au maximum les intervalles entre les photographies;
– éviter les réductions pour une meilleure qualité de reproduction; en conséquence, les dimensions des planches ne devraient pas dépasser 11,5 cm x 17,5 cm;
– pour les illustrations en couleur, demander l'accord de la Rédaction.